Aus der WE Anatomie
der Freien Universität Berlin
Geschäftsführender Direktor: Professor Dr. med. Willy Schwarz

ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNG ÜBER ENTWICKLUNG UND REIFUNG DES MESENCHYMS IM HERZEN EMBRYONALER RATTEN

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den
Medizinischen Fachbereichen der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Heinrich Gref
aus Leutkirch

1973

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552710_0098

Referent: Professor Dr. med. Hans-Joachim Merker

Korreferent: Professor Dr. med. Willy Schwarz

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 30. 11. 1973

Inhaltsverzeichnis

Einleitung	1
Material und Methoden	9
Befunde	
Lichtmikroskopie	11
Elektronenmikroskopie	13
Diskussion	25
Zusammenfassung	35
Bildmaterial	
Literaturverzeichnis	

I. Einleitung

Die Diskussion und die Erforschung des Herzbindegewebes ist eng verknüpft mit dem Problem des Sarcolemms.

Während Dietrich (1910), Schaffer (1920) und von Ebner (1920) eine eigenständige Membran der Herzmuskelzellen bestritten, sah Heidenhain (1901) die Begrenzung der Myocyten als ein dünnes Häutchen in Form einer Cytoplasmaverdichtung. Schon 1898 beschrieb Hoehl als erster am Herzmuskel des Hundes ein jede einzelne Muskelfaser umschließendes feinmaschiges Netz von fibrilärem Bindegewebe, "das aller Wahrscheinlichkeit nach mit dem Sarcolemm identisch ist". Es war schon 1847 von Reichert als äußere Grenzschicht von normalen Muskelzellen postuliert worden. Eckhard (1867) hielt das Sarcolemm für eine sekundär gebildete interzelluläre Struktur, die dem eigentlichen Muskel nicht integrierend angehört.

Cajal (1888), Hoehl (1898) und Pappenheimer (1908) sahen das Sarcolemm als feinmaschige Bindegewebshülle, die nach Marceau (1903) sich nicht vom Perimysium internum abgrenzen läßt. Den Zusammenhang zwischen Sarcolemm und perimysialem Bindegewebe, das nach Pappenheimer als stärkere Bindegewebsfibrillen parallel zu den Muskelfasern verläuft, beschrieben auch Achúcarro-Calandre (1913) und Studnicka (1915); Hoche (1897) dagegen glaubte, einen Zusammenhang des Sarcolemms mit dem interstitiellen Bindegewebe ausschließen zu können.

Beobachtungen von Marcus (1925) zufolge dringen Fibrillenbündel des Perimysium internum von der Seite der Muskelfasern in diese ein und

bilden zwischen den Muskelsäulchen ein dichtes Geflecht, ohne Beziehung zu der Querstreifung zu haben. Auch Körner (1936) glaubte, das Eindringen von perimysialen Bindegewebsfibrillen in die Sarcoplasmasäulen beobachtet zu haben.

Mit seinen Untersuchungen am Papillarmuskel des menschlichen Herzens nahm Quast (1926) an der langen und zeitweilig überwiegend polemisch geführten Diskussion über Appositions-, Kontinuitäts- bzw. Sarcolemmtheorie teil und stützte die von O. Schultze (1912, Skelettmuskulatur von Amphibien) zur Lehre erhobenen Kontinuitätstheorie des kontinuierlichen, die Zellgrenze überschreitenden Überganges von Muskelfibrillen in Sehnenfibrillen. Quast, von dem Vorhandensein eines bindegewebigen Sarcolemms nicht überzeugt, unterscheidet 3 Arten von interstitiellem Bindegewebe des Herzens.

1. Längs- oder Tangentialfasern, die in dickeren Lagen gestreckt oder geschlängelt, parallel oder schräg zu den Muskelfasern verlaufen,
2. Quer- oder Ringfasern, die senkrecht zu den Muskelfasern liegen, umhüllen diese spiralig, verbinden sich mit anderen gleichartigen Fibrillen zu einem Geflecht und ziehen über eine, manchmal jedoch über bis zu drei Muskelfasern hinweg. Durch weitere Aufteilung entstehen
3. feinste, eben noch sichtbare Einzelfibrillen, die dem Sarcolemm ("sofern vorhanden", Quast) am nächsten liegen, mit diesem aber nicht identisch sind, und am Aufbau eines engmaschigen, membran- oder schleierähnlichen Gerüstwerkes von großer Dichte teilnehmen.

Die äußere Fibrillenschicht (Tangentialfasern) soll mit Perimysium internum und Gefäßadventitia in Zusammenhang stehen. Die bindegewebige Verbindung von benachbarten Interstitien wurden auch von Wassermann (1929) und Körner (1936) beschrieben. Wassermann spricht außerdem vom Vorhandensein von Bindegewebszellen im Interstitium des Herzmuskels.

Auf Verbindungen des Sarcolemms mit dem Gitterfasergerüst, dem perivasculären Bindegewebe und dem Bindegewebe des Epi- und Endocards haben auch Bargmann (1963), K. Goerttler (1963), Faller (1944) und Hort (1960) hingewiesen.

Price (1955) unterscheidet aufgrund elektronenoptischer Untersuchungen am Sarcolemm des Hundeherzmuskels eine innere und eine äußere Membran. Die innere Membran stellt - wie inzwischen durch viele elektronenmikroskopische Untersuchungen bewiesen - die eigentliche Zellmembran dar, die äußere Membran ist mit der Basalmembran identisch. Von der äußeren Membran sollen (auch nach Ansicht Santers, 1972) Bindegewebsfibrillen abgehen. Lindner (1957) fand elektronenmikroskopisch beim Herzen von Rana temporanea subendocardial Bindegewebszellen und größere Bündel von Kollagenfibrillen, jedoch nicht in kleineren interstitiellen Räumen. Im Interstitium des Hundepapillarmuskels war fibrilläres und zelliges Bindegewebe, Kollagenfibrillen in größeren Interzellulärräumen und perivasculär.

Wolff (1961) beschreibt die Altersveränderungen am interstitiellen Bindegewebe des menschlichen Herzens mittels der sog. Schnitt-Schall-Methode, also durch Untersuchungen von isolierten Fibrillen. Seinen Untersuchungen zufolge gehören Kollagenfibrillen nicht zum normalen Faserbestand der Myocardinterstitien, sondern befinden sich entlang größerer Gefäße. Elastische Fasern sind in allen Interzellulärräumen diffus verteilt, während sich argyrophile Fasern in allen Interstitien finden und sich in Gefäßumgebung zu gewellten Faserzügen verdichten.

Über Ursprung und Entwicklung des myocardialen Bindegewebes existieren nur wenige Untersuchungen. Davis (1924) beschrieb die subendocardiale Sülze als homogenes transparentes Material, das Myo- und Endocard fixiert, während Tandler (1911) die "ursprüngliche Flüssigkeit" nach dem später darin sporadischen Auftreten von sternförmigen Zellen mit relativ kleinen Kernen mit der Wharton'schen Sülze verglich.

Nach Manasek (1968, 197o) ist die subendocardiale Sülze eine Sekretionsleistung der Myoblasten. Bei Markierungsversuchen fanden Markwald und Adam Smith (1972) Mucosubstanzen in subendocardialer Sülze, Endocardzellen und subendocardialen Fibroblasten; Scarpato (1971) hält es aufgrund der fast identischen Färbeeigenschaften für wahrscheinlich, daß die Fibroblasten des endocardialen Polstergewebes tatsächlich allein aus dem Endocard abstammen.

Bei seinen Untersuchungen über die subepicardiale Bindegewebsentwicklung beim embryonalen Hühnchenherzen fand Manasek (1969) wie Tandler

(1911) retardierte Myocytendifferenzierung des subepicardialen Myocardanteils gegenüber tieferen Schichten. Während nach Minot (1892) der embryonale Herzmuskelschlauch bei seiner Dickenzunahme zum Epicard hin Zellen abstößt, die mesenchymalen Charakter annehmen, den Subepicardialraum ausfüllen und das Herzbindegewebe sowie möglicherweise auch die Blutgefäße bilden, ist Manasek (1968) davon überzeugt, daß Fibroblasten, Blutgefäße und Epicard Entwicklungsursprünge haben, die von denen der Muskelzellen verschieden sind.

Über die Entstehung von Kollagenfibrillen vertrat Minot (1892) - gestützt auf die Untersuchung von Harting (1845) - die Ansicht, daß die Faserdickenzunahme von Kollagenfibrillen nur durch Fibrillenapposition zustandekommen kann, ohne aber näher auf die Bindegewebsfibrillogenese im Herzmuskel einzugehen. Lindner (1957) vermutet, daß der Perimembran der Herzmuskelzellen (Price, 1955) eine wesentliche Rolle bei der Entstehung neuer Kollagenfibrillen zukomme.

Tandler (1911) sah beim menschlichen Herzen am Ende der Foetalentwicklung an der Oberfläche entlang der Ausbreitung von Gefäßen und Nerven lockeres subepicardiales Bindegewebe auftreten. Santer (1972) beschrieb eine altersabhängige Zunahme des subendo- und subepicardialen Bindegewebes bei Pleuronectis platessa L.

Virâgh und Challice (1969) sahen bei Untersuchungen embryonaler Herzen bei an Bindegewebe angrenzenden Myocyten häufiges Auftreten von Sarcolemmverdichtungen wie bei zonula-adhaerens-type-junctions.

Mair und Tomš (1972) zeigten in ihrem Atlas u. a. elektronenmikroskopische Aufnahmen von menschlichen 16-Foetalwochen-alten Herzen mit der Beschreibung von normalen und pathologischen Bildern des muskulären Anteiles.

Santer (1972) ging in seiner Untersuchung über die Herzentwicklung kurz auf die Verlaufsrichtung des subendocardialen Bindegewebes ein.

Überblickt man diese Literatur über den normalen Aufbau des Bindegewebes im Herzen und dessen embryonale Entwicklung, so wird deutlich, daß erstaunlich wenig Publikationen - verglichen z. B. mit denen über den Muskelanteil des Herzens - existieren. Trotz eingehenden Suchens konnten wir weder eine zusammenfassende elektronenmikroskopische Darstellung des Bindegewebes in reifen Herzen - wenn man von den Klappen absieht, noch von dessen embryonaler Entwicklung finden. Die weiter oben zitierten Autoren hatten das Bindegewebe bzw. das Mesenchym nur nebenbei im Rahmen der Besprechung anderer Probleme gestreift. Nur Wolff (1961) hat versucht, die Feinstruktur dieser Vorgänge im Zusammenhang darzustellen. Da er aber die Schnitt-Schall-Methode anwandte (Schwarz, 1957, 1960), sind Übertragungen auf die topographischen Verhältnisse nicht sicher möglich. Zweifellos besteht also hier eine Lücke, die aus zwei Gründen immer deutlicher wird:

1. Einmal wird eine qualitative oder quantitative Veränderung des Bindegewebes in zunehmendem Maße und mit etwas genaueren theoretischen Kenntnissen für Störungen der Herzfunktion verantwortlich gemacht. Die ständigen Formwandlungen des Herzens, die Änderungen

der Wanddicke, der Weite des interstitiellen Raumes und des Füllungszustandes der Gefäße erfordern auf der einen Seite ein mechanisch sehr widerstandsfähiges Bindegewebe. Auf der anderen Seite muß es aber anpassungsfähig und sehr veränderbar sein. Eine "Fibrose" im weitesten Sinne könnte deshalb einige Funktionsbereiche störend beeinflussen.

2. In letzter Zeit konnten elektronenmikroskopische, biochemische, autoradiographische und histochemische Untersuchungen unsere Kenntnisse über die Bildung, Reifung und den Aufbau des Bindegewebes in vielen Organen, in vivo und auch im Reagenzglas, wesentlich erweitern. So konnte die Morphologie der Synthese von Kollagen und Glycosaminoglycanen dargestellt werden (Boedtker und Doty, 1955; Fernandez-Madrid, 1967; Gross, 1956; Hodge, 1958; Kühn et al., 1960; Levene, 1973; Merker, 1961 a, b; Merker u. Struwe, 1971; Merker u. Günther, 1973; Pérez-Tamayo, 1973; Priest, 1973; Prockop, 1969; Rojkind, 1973; Rojkind u. Zeichner, 1973; Ross u. Benditt, 1965; Ross, 1968; Schmitt, 1959; Schwarz, 1964; Silbert, 1973 a, b).

Die Aminosäuresequenz, die Zusammenlagerung der kollagenen Polypeptidketten zu α -, β - und schließlich γ-Molekülen (= 3 Polypeptidketten in einer α-Helix gewunden, Tropokollagenmolekül), die jeweils 1/4-verschobene Aggregation zu Filamenten und Fibrillen, das Fibrillenwachstum, die Faserentstehung und die Ausprägung der Struktur konnten wenigstens teilweise aufgeklärt werden. Eine Übertragung dieser Erkenntnisse auf das Bindegewebe des Herzens, auf dessen Entstehung und der Versuch einer funktionellen Deutung erscheint deshalb besonders sinnvoll.

Wir haben deshalb zunächst versucht, die Entwicklung und Reifung des Mesenchyms im Herzen von Rattenembryonen bzw. -foeten elektronenmikroskopisch zu verfolgen. Wir wählten die Ratte, da uns bei dieser Species eine lückenlose Materialsammlung der Herzentwicklung zur Verfügung stand und in diesem Institut eine ausgedehnte Erfahrung über die Feinstruktur des Rattenbindegewebes besteht. Auf der Grundlage dieser elektronenmikroskopischen Befunde sollte besonders zu folgenden Problemen Stellung genommen werden:

1. Syntheseart der mesenchymalen Interzellularsubstanz,
2. Aggregationsformen des Kollagens,
3. Beteiligung der Glycosaminoglycane an der Fibrillogenese,
4. Basalmembranbildung,
5. Lokalisation dieser Vorgänge im Myocard.

II. Material und Methoden

Die zur Untersuchung benützten Embryonen bzw. Foeten und Jungtiere stammten von einem Inzuchtstamm von Wistarratten "Paderborn FW 69", die in temperatur- und feuchtigkeitsregulierten Räumen bei umgekehrtem Tag-Nacht-Rhythmus gehalten und mit Altromin-Futter und Wasser ad libidum versorgt wurden. Nach Verpaarung zwischen 7.3o und 9.3o h wurden mittels Vaginalabstrich die spermienpositiven Tiere aussortiert und 8.oo h als Beginn des Tages Null festgesetzt. Entsprechend des Entnahmezeitpunkts der Foeten wurde außer den Tagen die Stundenzahl mit berücksichtigt (z. B. Tg 14 + 8 entsprechend Tag 14 um 16.oo h).

Durch Sectio wurden die Foeten den äthernarkotisierten Muttertieren entnommen. Mit Ausnahme von Tg 11 - zu diesem Zeitpunkt wurden die Embryonen in toto fixiert - wurden die Herzen herauspräpariert und dann fixiert.

Bei der Fixation verwendeten wir 3 verschiedene Verfahren:

1. Karnowski modifiziert (3 %iger Glutaraldehyd, 3 %iger Paraformaldehyd und Natrium-Cacodylatpuffer. Auf 1oo ml dieser Lösung 5o mg $CaCl_2 \cdot H_2O$), Nachfixierung mit 1 %igem OsO_4 und Cacodylatpuffer (pH 7,2).
2. 1 %iges OsO_4 mit Phosphatpuffer (pH 7,2).

3. Karnowski modifiziert, Nachfixierung mit 2 %igem OsO_4 mit cacodylatgepuffertem Rutheniumrot.

Nach Entwässerung in aufsteigender Acetonreihe wurden die Organe in Mikropal eingebettet.

Zur Orientierung im Block stellten wir mit dem Porter Blum Mikrotom Semidickschnitte (o,5 bis 1 µ) her und färbten diese mit alkalischer Giemsalösung. Dünnschnitte wurden mit dem LBK-Ultrotom III angefertigt, auf sog. Lochblenden aufgefangen und mit Uranylacetat und Bleicitrat nach Reynolds nachkontrastiert.

Die elektronenoptische Untersuchung erfolgte mit Siemens-Elmiskopen I und I a, bei einer Strahlspannung von 8o KV und Primärvergrößerung zwischen 1.ooo und 44.ooo. Die Auswertung nahmen wir bei einer 3 1/2fachen Nachvergrößerung auf Papier vor.

Untersucht wurden embryonale Herzen der Tage 11, 14 + 8, 15 + 3, 17 + 3, 18 + 2, 19 + 5, 2o + 6, 21, 21 + 6, 22 + 2 und post partum des Tages 1. Zur lichtmikroskopischen Untersuchung erfolgte die Fixierung in Bouin'scher Lösung, die Entwässerung in Alkohol, die Einbettung in Paraffin und die Färbung mit HE oder Azan.

III. Befunde

a) Lichtmikroskopie

Zwischen zunächst einschichtigem Endocardschlauch und Myocardzylinder des 1o-Tage-alten Embryos besteht ein breiter, mit "Herzsülze" ausgefüllter Raum. Der Herzschlauch beschreibt zu diesem Zeitpunkt eine nach rechts ventral gerichtete Schleife. Ungefähr gleichzeitig liegt der Beginn der Trennung von Vorhof und Ventrikel. Die Teilung der Ventrikelanlage und des Ohrkanals beginnt am 11. Tag. Während der Ohrkanal am 13., das Ostium atrioventrikulare am 14. Tag aufgeteilt sind, und das Vorhofseptum gegen Ende des 14. Tages mit dem Endothelkissen des Ohrkanals verwachsen ist, findet man das Ventrikelseptum erst am 16. Tag - bis auf ein kleines Foramen interventrikulare - ausgebildet.

Mit zunehmendem Wachstum des Myocardanteiles wird der subendocardiale Sülzraum schmaler und mit dem Vorwachsen der endocardbekleideten Trabekel ab Tag 1o entsteht das "primitive Gefäßsystem" des Herzens, die sog. Sinusoide, die dem Herzen ein spongiöses Aussehen verleihen. Diese Sinus sind also zunächst nur Buchten des zentralen Lumens, mit dem sie auch noch breite Verbindungen aufweisen. Wenig später dringt dann das Endocard in muskuläre Spalträume vor und bildet Kapillaren, während fast gleichzeitig, vom Sinus venosus ausgehend, das venöse Gefäßsystem vordringt. Ungefähr

ab Tag 18 beginnt eine gewisse Rückbildung von Sinusoiden und das endgültige Coronargefäßsystem - ausgehend von Sinus venosus und Sinus valsalvae - übernimmt die Blutversorgung des Herzens.

Mit der Einengung der Sinusoide gewinnen die Ventrikel ihr immer weniger aufgelockertes und schließlich definitiv kompaktes Aussehen. Über das Gefäßsystem und dessen mögliche Verbindungen zum Ventrikellumen lassen sich lichtmikroskopisch keine sicheren Aussagen mehr machen. Auch die Beschreibung des sich entwickelnden Bindegewebsgerüstes im Bereich des eigentlichen Myocards ist mit der lichtmikroskopischen Methode schwierig. Erst in den Tagen um die Geburt gelingt eine außerordentlich zarte Darstellung von Fäserchen mit der Azan-Methode.

b) Elektronenmikroskopie

Tag 11

Zu diesem Zeitpunkt lassen sich elektronenmikroskopisch Zelltypen sicher trennen: Pericard-, Endothel-, Mesenchym- und Muskelzellen verschiedener Reifestadien.

Bei der folgenden Beschreibung dieser Zelltypen sollen aber nur die Strukturen berücksichtigt werden, die zum Verständnis des eigentlichen Themas "Elektronenmikroskopische Untersuchung über Entwicklung und Reifung des Mesenchyms im Herzen embryonaler Ratten" beitragen.

Das Bild der blutführenden Hohlräume im Bereich der Myocardanlage wird im wesentlichen geprägt von den sog. Sinus, die mit dem Ventrikellumen in offener Verbindung stehen und die sich von hier aus zwischen die Muskelzellen schieben. Sie sind gekennzeichnet auf der einen Seite durch ein außerordentlich breites und plumpes Cytoplasma mit vielen Zellorganellen, auf der anderen Seite durch schmale, sich zwischen die Muskelzellen schiebende organellarme Platten. Die kernnahen organellreichen Abschnitte enthalten große Mengen membranbegrenzter Hohlräume des rauhen endoplasmatischen Retikulums, die untereinander und auch mit den perinukleären Zysternen anastomosieren. An einzelnen Stellen sind diese ribosomenbesetzten Hohlräume aufgebläht. Sie enthalten ein fein-

granuläres bis feinfilamentäres Material von mittlerer Elektronendichte. Daneben kommen noch ovale bis langgestreckte Mitochondrien vom Crista-Typ, viele freie Polysomen, einzelne kleine Granula und Vesikel sowie ein großer Golgi-Apparat vor, der aus mehreren kurzen, halbkreisförmig oder circulär angeordneten Membranpaketen und vielen Vesikeln zusammengesetzt ist. Im Kernbereich wölben sich die Endothelien buckelförmig in das Lumen vor. Auffällig sind einzelne unterschiedlich lange und breite Fortsätze der Endothelzellen, die besonders im Bereich der noch basalmembranfreien Abschnitte (siehe unten) in den mesenchymalen Interzellulärraum hineinragen. Mikrovilli-artige Fortsätze finden sich auch an der Lumenseite.

Die Herzmuskelzellen sind bereits durch geordnete Myofilamentsysteme, d. h. durch ihren Gehalt an Myofibrillen, charakterisiert. Sie enthalten darüberhinaus reichlich Glycogen und freie Polysomen sowie die üblichen Zellorganellen. Die Menge des rauhen endoplasmatischen Retikulums ist aber relativ gering. Die Muskelzellen hängen bereits epithelähnlich mit Desmosomen und sich entwickelnden Glanzstreifen zusammen.

Häufig finden sich zwischen Endothel- und Muskelzellen plump-ovale bis bipolare Fibroblasten, die durch ihre Lokalisation, ihre Form und durch das Vorkommen großer Mengen von rauhem endoplasmatischem Retikulum charakterisiert sind. Auch hier findet man Verzweigungen, Anastomosen der Hohlräume und Verbindungen mit perinukleären Zysternen. Daneben imponieren große Mengen von freien Ribosomen,

einzelne elektronendichte Einschlüsse und ein mittelgroßer Golgi-Apparat. Zahl und Größe der Mitochondrien sind gering. Der Kern ist vorwiegend oval und zeigt eine glatte oder leicht gekerbte Begrenzung. Das Karyoplasma ist aufgelockert und bis auf kleinere Chromatinplaques relativ gleichmäßig verteilt. In diesem aufgelockerten Karyoplasma hebt sich besonders deutlich der elektronendichte Nukleolus hervor. Er besteht aus dicht gepackten, fein filamentären oder granulären Strukturen, die in anastomosierenden und sich verflechtenden Strängen angeordnet sind. Solche Nukleolusstränge (Nukleolonemata) fassen hellere Bezirke, die sog. Nukleolusvakuolen, zwischen sich. Dadurch kommt ein wabenförmiges Bild zustande. Manchmal finden sich außerordentlich aufgelockerte Nukleoli, oder einzelne Nukleolonemata strahlen in das Karyoplasma ein. Diese Nukleolusmorphologie ist kennzeichnend für die Kerne aller Zelltypen in der embryonalen Phase und braucht deshalb nicht einzeln beschrieben zu werden.

Der interstitielle Raum ist besonders weit zwischen Endocard bzw. Endothel der einsprossenden Sinus und den angrenzenden Muskellagen sowie zwischen Epicard und der äußeren Muskelschicht. Die interstitiellen Räume im eigentlichen Myocardbereich sind vergleichsweise schmaler. Bei niedriger Vergrößerung lassen sich hier zunächst keine auffallenden Strukturen, bei höherer Vergrößerung jedoch der Beginn der Fibrillogenese bzw. Interzellularsubstanzbildung deutlich darstellen.

Basalmembran: Sowohl unterhalb des Endothels als auch um die Muskelzellen herum ist die Basalmembranbildung in vollem Gange. Während besonders unterhalb des Endothels noch weite Strecken ohne jede Basalmembranbeschichtung vorkommen, finden sich in anderen Bereichen bereits typische Basalmembranen. Es handelt sich um eine etwa 300 bis 400 Å dicke, unscharf begrenzte Lamelle, die sich in einem Abstand von ungefähr 400 bis 500 Å parallel zur Muskel- bzw. Endothelzellmembran verläuft. Bei höherer Vergrößerung läßt sich ein locker gepacktes, feinfilamentäres Netzwerk nachweisen. An anderen Stellen sind diese unregelmäßig verlaufenden Filamente noch nicht zu einer Lamelle verdichtet, liegen in unterschiedlicher Entfernung plaquesartig in Zellmembrannähe und strahlen vereinzelt in bereits bestehende typische Basalmembranabschnitte ein.

Glycosaminoglycane: Im übrigen Interzellulärraum finden sich besonders nach Anwendung der Rutheniumrot-Methode einzelne isoliert und unregelmäßig verlaufende Filamente mit einem Durchmesser von etwa 60 bis 80 Å, die einen gewellten Verlauf haben. Daneben finden sich elektronendichte Granula mit Durchmessern von ca. 200 bis 300 Å, von denen aus feine Filamente (40 bis 60 Å) unterschiedlich weit in die Umgebung ausstrahlen. Die Häufigkeit ihres Vorkommens und ihrer Packungsdichte wechselt außerordentlich stark. In einer Ausschnittsfläche von 1 μ^2 können in einzelnen Fällen bis zu 15 solcher Granula gezählt werden, in anderen Bereichen fehlen sie völlig.

Solche Strukturen wurden bereits in anderen Bereichen des embryonalen Mesenchyms dargestellt und hier als Glycosaminoglycane angesprochen (Merker und Günther, 1973).

Kollagen: Als drittes Strukturelement des Interzellulärraumes finden sich langgestreckte, vorwiegend geradlinig oder allenfalls leicht gewellt verlaufende Filamente, deren Dickenwert zu diesem Zeitpunkt der Entwicklung zwischen 100 und 200 Å liegt. Solche Filamente, die in Analogie zu vielen anderen Untersuchungen an embryonalem und unreifem Bindegewebe als kollagene Fibrillen bezeichnet werden können, kommen entweder einzeln oder annähernd parallel gepackt in Gruppen zu 3 bis 5 vor. Bei höherer Vergrößerung läßt sich in den dickeren dieser Kollagenstrukturen eine Querstreifung darstellen, die jedoch nicht der typisch polaren 640-Å-Periodik des Kollagens entspricht. Man findet jeweils zwei etwa 30-Å-breite dunkle Linien, die durch einen etwa ebenso breiten hellen Spalt getrennt sind. Zwischen diesem Linienpaar und dem nächsten liegt dann eine etwas breitere helle Zone. Die Länge - Doppellinie + angrenzende helle Zone - beträgt etwa 130 Å. Die kollagenen Strukturen mit Querstreifung ($\geq$ 150 Å) sollen im Folgenden als Fibrillen, solche ohne Querstreifung ($<$ 150 Å) als Filamente bezeichnet werden. An die kollagenen Filamente bzw. Fibrillen ziehen die weiter oben beschriebenen dünneren und dickeren Filamente heran. Streckenweise sitzen auch die elektronendichten Granula den Kollagenstrukturen auf. An einzelnen Stellen

verfilzen sich Granula, Filamente und manchmal auch kollagene Filamente so stark, daß eine genaue Trennung der Einzelbestandteile nicht sicher möglich ist. Bei der Beschreibung der interstitiellen Räume des embryonalen Herzens muß aber darauf hingewiesen werden, daß zu diesem Zeitpunkt noch weite Bereiche optisch leer sind.

Tag 14

Beim Vergleich mit den Verhältnissen des Tages 11 finden sich die deutlichsten Unterschiede subepicardial. Unter dem mesothelähnlichen, einschichtigen, flachen Epithelverband liegen mit regellosem Verlauf, jedoch vorwiegend parallel zur Oberfläche, zahlreiche Bündel kollagener Fibrillen. Sie enthalten bis zu 3o Fibrillen, die einen Durchmesser von 15o bis 3oo Å haben. Zwischen diesen Fibrillenbündeln stellen sich die bereits am Tag 11 beschriebenen elektronendichten Granula mit ausstrahlenden Filamenten dar.

In den interstitiellen Räumen zwischen den Muskelzellen bzw. zwischen Endothel und Muskelzellen hat sich das morphologische Bild nur quantitativ verändert: Die Zahl der einzelnen und zu kleinen Bündeln von höchstens 1o vereinigten Fibrillen hat etwas zugenommen. Aber auch jetzt noch findet man Bereiche, wo elektronenmikroskopisch keine Interzellularstrukturen nachweisbar sind. Die Zahl der Fibroblasten ist etwas vermehrt. Ihr Bild hat sich

aber nicht wesentlich verändert. Man trifft jedoch jetzt häufiger die bereits beschriebene Erweiterung des rauhen endoplasmatischen Retikulums mit einem feinfilamentären und granulären Inhalt mittlerer Elektronendichte. Die übrigen Bestandteile des mesenchymalen Interzellulärraumes - die elektronendichten Granula mit ausstrahlenden Filamenten und den gewundenen, häufig sogar spiralig verlaufenden Filamenten - kommen ebenfalls noch vor. Hier muß darauf hingewiesen werden, daß es stellenweise schwierig ist, den intra- und extraluminalen Raum im Bereich der Gefäße zu definieren. Endothelähnliche plattenförmige Fortsätze, die mit typischen Kontaktstellen (tight-junctions) zusammenhängen, zeigen an beiden Seiten die beschriebenen interzellulären Strukturen. Ob hier einwandernde Endothelzellen mit offenen Lumina, wie sie Henningsen und Schiebler (1970) beschreiben, vorliegen oder ob es sich um eine spezielle Kontaktform von Fibroblastenausläufern handelt, kann nicht sicher entschieden werden. Eine Veränderung der Basalmembranverhältnisse ist schwierig abzuschätzen, da auch jetzt noch Endothel- und Muskelzellen streckenweise eine deutliche Basalmembran zeigen, während sie an anderen Stellen noch fehlt oder gerade in Bildung begriffen ist.

Der Organellreichtum der Endothelzellen hat eher noch zugenommen, besonders Abschnitte mit dichtgepackten Hohlräumen des rauhen endoplasmatischen Retikulums sind oft darzustellen. Daneben imponiert ein gut ausgebildeter Golgi-Apparat. Die Herzmuskelzellen selbst zeigen zunehmende Zeichen der Differenzierung, d. h. die

Zahl der Myofibrillen nimmt zu, jedoch kommen daneben auch alle anderen Reifungsstadien vor. Auffällig ist die jetzt deutlich ausgeprägte Beladung mit Glycogen. Die glycogenhaltigen Bezirke der Herzmuskelzellen sind bei Fixation mit Glutaraldehyd optisch leer, da unter dieser Präparation das Glycogen herausgelöst wird. Nach OsO_4-Fixation enthalten diese Cytoplasma-Bezirke etwa 3oo-Å-große, nach Bleikontrastierung sehr elektronendichte Granula.

Tag 15

Das Myocard wird entsprechend dem histologischen Bild zunehmend dichter. Im elektronenmikroskopischen Bild drückt sich das in einer Verengung des interstitiellen Raumes zwischen Muskelzellen und Kapillaren aus. Man findet jetzt stellenweise an den Abschnitten mit dünnem Endothel bereits Verhältnisse, wie sie an reifen Herzen üblich sind: einen Interzellularspalt von nur einigen 1oo Å Breite mit deutlichen Basalmembranen an beiden Seiten und eine feinfilamentäre Verknüpfung zwischen beiden.

Tag 17

Gegenüber den bisher beschriebenen Verhältnissen läßt sich eine deutliche Zunahme der elektronenmikroskopisch faßbaren Strukturen im mesenchymalen Interzellulärraum nachweisen. Diese Vermehrung bezieht sich sowohl auf die Zahl der Fasern in einem Areal, als

auch auf die Zahl der Einzelfibrillen pro Faser. Man findet jetzt vereinzelt Fasern, die im Anschnitt bis zu 100 Einzelfibrillen aufweisen können. Darüberhinaus hat auch die Dicke der Fibrillen zugenommen. In den dicken Fasern, die auch hier wieder besonders häufig unter dem Epicard anzutreffen sind, lassen sich Fibrillendicken bis zu 400 Å messen. Im Unterschied zu den Fasern im reifen Herzmuskel, wo ähnliche Größenverhältnisse angetroffen werden, sind diese hier untersuchten frühen Fasern gekennzeichnet durch zahlreiche Filamente innerhalb und außerhalb des Faserbereiches. Es handelt sich dabei einmal um langgestreckt-geradlinig verlaufende, etwa 80 bis 120 Å dicke Filamente, die häufig annähernd parallel zur Faserrichtung verlaufen, also offenbar um Kollagen. Daneben kommen feinere Filamente mit unregelmäßigem Verlauf vor, die sowohl Kontakte mit den Kollagenfibrillen, als auch mit den elektronendichten Granula haben. Solche Filamentstrukturen erscheinen jedoch auch unabhängig von den kollagenen Fibrillenbündeln im übrigen Interzellulärraum.

Die Reifung der Basalmembran ist zu diesem Zeitpunkt (Tag 17) ebenfalls weiter fortgeschritten. Auf weiten Strecken läßt sie sich als morphologisch gut definierbare Lamelle von 300 bis 400 Å parallel zu Muskel- und Endothelzellmembran nachweisen.

Während bisher in einigen Bereichen des Interzellulärraumes keinerlei elektronenmikroskopisch faßbare Strukturen nachweisbar

waren, lassen sich jetzt in dem durch den Proliferationsdruck des Endothels und der Muskelzellen stark verengten interzellulären Raum bei mittlerer Vergrößerung zumindest Filamente und Granula, wenn nicht Einzelfibrillen oder kleinere Fibrillenbündel nachweisen. Die Breite des sülzhaltigen Interzellulärraumes unter dem Endocard und um die ventrikelnahen Sinus hat sich ebenfalls deutlich verringert. Unter dem Epicard läßt sich zwar noch ein derartiger breiter Raum nachweisen, er enthält jetzt aber zahlreiche, untereinander verflochtene, dicke Kollagenfasern und zelluläre Elemente wie Fibroblasten und Histiocyten.

Tag 18

Die Darstellung des subepicardialen Raumes gelang uns besonders gut am Tag 18 mit der Rutheniumrot-Methode. Durch die Schwärzung der mucopolysaccharidhaltigen Substanzen (Glycosaminoglycane), die eine enge räumliche Beziehung zu den kollagenen Fibrillen haben, heben sich hier die kollagenen Fasern besonders eindrucksvoll hervor. Bei mittlerer Vergrößerung wird deutlich, daß die mucopolysaccharidhaltigen Granula fast regelmäßig in einem Abstand von 500 bis 600 Å den Kollagenfibrillen aufsitzen. Von diesen Granula strahlen feine Filamente in die Umgebung oder zu benachbarten kollagenen Fibrillen, so daß im Querschnitt die Einzelfibrillen untereinander vernetzt erscheinen. Die Auflagerung von elektronendichten rutheniumrotpositiven Granula kann aber auch so stark sein,

daß diese regelmäßige Ordnung und auch die Feinstruktur der zugehörigen Fibrille maskiert wird. Bei hoher Vergrößerung zeigt sich, daß auch jetzt noch keine deutlich polare 600-Å-Querstreifungsperiodik vorhanden ist, wenn auch durch die aufsitzenden Granula ein derartig periodisches Aussehen geprägt wird. Es herrschen auch jetzt noch die bei Tag 11 beschriebenen Verhältnisse vor: elektronendichte Doppellamellen, die durch einen breiteren hellen Saum getrennt sind. Die rutheniumrotpositiven Granula stehen in Verbindung mit jeder 4. Doppellamelle. Nur an einigen Stellen scheint sich eine Entwicklung anzubahnen, die zu den Verhältnissen an reifen Herzen überleitet. Hier unterscheiden sich die Linien innerhalb der Distanz zwischen zwei elektronendichten Granula durch Dicke, Dichte und Abstand, d. h. aus der kontinuierlichen Querstreifung entsteht eine polare Querstreifungsperiodik.

Das Bild der übrigen Bereiche des Herzmuskels unterscheidet sich nicht wesentlich von Tag 17.

Tag 19, 2o, 22 und 1 pp

In diesen Tagen ändert sich das Bild nur noch quantitativ. Der subepicardiale Raum lagert immer mehr sich durchflechtende Fasern ein. Sie können aus mehreren hundert Fibrillen bestehen. Ihr Gesamtdurchmesser übersteigt jedoch nicht den Wert von 1,5 µ. Die Dicke der Einzelfibrillen kann 400 Å erreichen.

Die Basalmembran ist zur Geburt fast vollständig angelegt. Man findet zwar einzelne Strecken, in deren Bereich die Bildung noch im Gange ist, Zellmembranen mit fehlender Basalmembran kommen jedoch nicht mehr vor.

Neben dem Trend zu Zunahme von Zahl und Dicke der Fasern im Interstitium des Myocards bleiben die morphologischen Verhältnisse der Filamente und Granula relativ unverändert. Auch die Fibroblasten zeigen nach wie vor die Zeichen einer starken Synthesekapazität, die sich besonders durch ein ausgeprägtes und häufig auch erweitertes rauhes endotheliales Retikulum manifestiert. Auch im Endothel finden sich noch organellreiche, besonders ergastoplasmareiche Abschnitte. Daneben kommen lange Strecken mit dünnen und organellarmen Endothelplatten vor, die den reifen Verhältnissen bereits sehr ähnlich sind.

Die Muskelzellen zeigen zum Zeitpunkt der Geburt einen relativ gleichmäßigen Differenzierungszustand. Die Differenzierungsunterschiede, geprägt durch ständige Neubildung von Muskelzellen, sind also weitgehend verschwunden. Die Muskelzellen sind jetzt gekennzeichnet durch große Mengen an hochgeordneten Myofibrillen und die reichliche Einlagerung von Glycogen.

Diskussion:

Die Einschätzung der Bedeutung des Bindegewebes im Myocard hat zweifellos in letzter Zeit zugenommen, da die Verspannung, der Verschiebevorgang und die Endocard-Epicardfixierung für die Herzfunktion - besonders die Ventrikelentfaltung - wichtige Voraussetzungen sind (Lunkenheimer, Ising, 1973). Über die makroskopische und mikroskopische Textur des Bindegewebes, die zur Klärung dieser Fragen eine besondere Rolle spielen, wird aber in dieser Arbeit nichts ausgesagt. Wesentlich sollen dagegen die elektronenmikroskopischen Befunde, die zur Lösung dieser Probleme nur wenig beitragen können, berücksichtigt werden.

Obwohl das Hauptgewicht auf Entwicklung und Entstehung des Bindegewebes liegt, kann mit Hilfe der elektronenmikroskopischen Technik zu einigen Problemen Stellung genommen und Lösungsmöglichkeiten angeboten werden, die auch das Bindegewebe des erwachsenen Herzens betreffen. In diesem Zusammenhang und zur Festsetzung der Nomenklatur bei der späteren Diskussion ist es wichtig, den Begriff des Sarcolemms zu definieren. Der alte lichtmikroskopische Begriff Sarcolemm bezeichnet ein zusammengesetztes Gebilde. In elektronenmikroskopischen Aufnahmen läßt sich unterscheiden:

1. die eigentliche Zellmembran, etwa 9o bis 1oo Å dick und bei höchsten Auflösungen doppelt strukturiert, die kontinuierlich wie bei allen anderen Zelltypen die Herzmuskelzelle umgibt;

2. die Basalmembran, eine etwa 300 bis 400 Å dicke Verdichtungsschicht des bindegewebigen oder mesenchymalen Interzellulärraumes, die in einem Abstand von etwa 400 Å parallel zur Zellmembran verläuft;
3. feine, höchstens 450 Å dicke Kollagenfibrillen, die gebündelt als Retikulinfäserchen die Herzmuskelzellen umspinnen.

Alle bisher auf der Grundlage von lichtmikroskopischen Befunden geäußerten engen räumlichen Beziehungen der Retikulinfäserchen zum Herzmuskel müssen aufgrund der elektronenmikroskopischen Befunde davon ausgehen, daß die Fibrillen selbst niemals in die Basalmembran einstrahlen, sondern höchstens mehr oder weniger parallel verlaufend ihr eng anliegen. Die Beobachtungen von Marcus (1925) und Körner (1936) über ein Eindringen von Bindegewebsfäserchen in die Herzmuskelzellen oder die alte Vorstellung vom kontinuierlichen Übergang zwischen Myofibrillen und Bindegewebsfasern muß deshalb eindeutig abgelehnt werden. Histologische Präparate, die zu diesen falschen Vorstellungen führen können, müssen durch Zellbuchten und tangentiale Anschnitte erklärt werden.

Wenn in dieser Arbeit von Kollagenfibrillen, die Retikulinfäserchen aufbauen, die Rede ist, so ist das kein Widerspruch. Nach den bisher vorliegenden Befunden bestehen auch die lichtmikroskopisch definierten Retikulinfäserchen - Schwärzung nach Silberfärbung und PAS-Positivität - aus Kollagenfibrillen, die jedoch durchschnittlich eine geringere Dicke aufweisen (< 500 Å) als die typischen Fibrillen in kollagenen

Fasern. Neben diesen Unterschieden in der Fibrillendicke prägt vor allen Dingen die interfibrilläre Kittsubstanz das abweichende färberische Verhalten dieser Fasern. Elektronenmikroskopisch ist es deshalb durchaus berechtigt, von Kollagenfibrillen zu sprechen, die aber unter bestimmten Umweltbedingungen durchaus zu einer retikulären Faser gebündelt werden können (Irving et al., 1954; Robb-Smith, 1957; Schwarz, 1966; Dettmer et al., 1951, 1954; Grassmann, 1955; Graumann, 1957; v. Herrath et al., 1951; Schwarz, 1955; Schwarz et al., 1959).

Bei der Besprechung der Entstehung des Herzbindegewebes sollte am Anfang eine Diskussion der Fragen stehen, die die Herkunft der eigentlichen Bindegewebszellen betreffen. Hier muß aber selbstkritisch zugegeben werden, daß für eine Stellungnahme die elektronenmikroskopische Methodik nicht geeignet ist. Dafür müssen autoradiografische Techniken oder eng gegliederte räumliche und zeitliche Serienschnitte verwendet werden. Darüberhinaus wird aber dieses Problem durch die Tatsache kompliziert, daß offenbar nicht nur Mesenchymzellen, sondern Epithelzellen, Muskelzellen und prämesodermale Zellen früher Keimanlagen in der Lage sind, Kollagen zu synthetisieren (Conrad, 1970; Corner, 1920; Rohr u. Jurukova, 1968; Lit. siehe auch Hackelberg, 1971, und Heidekrüger, 1973). Zu diesem Komplex kann die Elektronenmikroskopie ihren Beitrag leisten. Besonders das Kollagen, aber auch der Proteinanteil der Glycosaminoglycane werden an den Ribosomen des rauhen endoplasmatischen Retikulums synthetisiert (Fernando u. Movat, 1963; Gould, 1968; Priest, 1973; Merker, 1961 a, b; Merker u. Struwe, 1971; Schwarz, 1964). Jede Zelle, die also aktiv mit der Synthese dieser

Proteine befaßt ist, muß diese Membransysteme enthalten. Von diesem Standpunkt aus gesehen, kommen für die Synthese des Kollagens im embryonalen Herzmuskel sowohl die dicken, organellreichen Abschnitte des Endothels, als natürlich auch die Fibroblasten in Frage. Die Herzmuskelzellen selbst enthalten dagegen nur wenige kurze Hohlräume des endoplasmatischen Retikulums. Sehr schwierig zu entscheiden ist elektronenmikroskopisch jedoch, ob die proteinsynthetisierenden Zellorganellen in diesen Zelltypen das Kollagen für die Fibrillen, die Proteine für die Glycosaminoglycane oder aber das Kollagen bzw. die Proteine für die Basalmembran bilden. Elektronenmikroskopisch gelingt es nicht, den chemischen Charakter der Syntheseproduktion an den Ribosomen bzw. am endoplasmatischen Retikulum abzulesen. Nur quantitative Aussagen sind möglich (Merker, 1964). Die Zahl der Ribosomen, besonders die Zahl der einzelnen Ribosomen pro Polysom, und die Größe der endoplasmatischen Hohlräume geben einen Hinweis auf die Höhe der Protein-Synthese-Rate. Wenn man versucht, diese Vorstellung mit autoradiografischen Untersuchungen zur Deckung zu bringen, dann könnte folgende Hypothese entwickelt werden: Die Fibroblasten bilden den größten Teil des Kollagens und der Glycosaminoglycane. Die Endothelzellen beteiligen sich an der Sekretion der Mucopolysaccharide (Scarpato, 1971; vgl. Manasek, 1968, 1969, 197o) und müssen ähnliche Substanzen zur Neubildung großer Membranflächen während der Gefäßproliferation zur Verfügung stellen. Sowohl Endothel- als auch Muskelzellen bilden große Anteile der zugehörigen Basalmembran selbst. Die Vorstellung einiger Autoren, daß die Myoblasten an der Bildung der Interzellularsubstanz beteiligt sind, ist deshalb an sich berechtigt, jedoch können diese Vorgänge qualitativ und quantitativ etwas differenzierter betrachtet werden.

In Analogie zu Befunden an anderen embryonalen Organen sprechen auch unsere elektronenmikroskopischen Bilder dafür, daß die frühesten Interzellulärräume während der Keimentwicklung und auch während der Anlage von Organen keine kollagenen Strukturen enthalten (Merker u. Günther, 1973; Myer, 1960). Da sie aber nicht leer sein können, spricht viel für die Vorstellung, daß zunächst Glycosaminoglycane sezerniert werden, die aufgrund ihrer hohen Wasserbindungsfähigkeit diese Räume entfalten. Bisher war es jedoch schwierig, diese Verhältnisse direkt morphologisch nachzuweisen. Die Menge der Glycosaminoglycane reicht nicht aus, um histochemische Methoden anwenden zu können. Die leichte Löslichkeit sowie die geringe Elektronendichte verhinderten die elektronenmikroskopische Darstellung. Höchstens autoradiographische Untersuchungen ließen derartige Vorgänge vermuten. Durch die Entwicklung der sog. Rutheniumrot-Methode ist es jetzt aber möglich, die Glycosaminoglycan-Makromoleküle direkt elektronenmikroskopisch darzustellen (Luft, 1971 a, b; Merker u. Struwe, 1971; Merker u. Günther, 1973). Dabei hat sich in Übereinstimmung mit biochemischen Befunden gezeigt, daß

1. [illegible] chymalen Interzellulärräume ausfüllt, und
2. diese ersten Glycosaminoglycane mit großer Wahrscheinlichkeit Hyaluronsäure darstellen.

Erst in diesem Netzwerk von Mucopolysaccharidfäden, die große Mengen von Wasser binden, entwickeln sich die ersten elektronenmikroskopisch faßbaren kollagenen Strukturen.

Nach den oben bereits geschilderten Vorstellungen beginnt dieser Vorgang mit der Differenzierung bestimmter Zelltypen des Mesenchyms, besonders der Fibroblasten, zu Kollagen synthetisierenden Zellen. Vom cytologischen Standpunkt aus läßt sich diese Differenzierung an der Entstehung des rauhen endoplasmatischen Retikulums ablesen. Nach der Sekretion dieser Syntheseprodukte, die entweder direkt durch Öffnungen der endoplasmatischen Hohlräume nach außen oder aber durch Vesikelfluß via Golgi-Apparat vor sich geht, finden sich im Extrazellulärraum kollagene Polypeptidketten. Sie können sich erst hier oder aber bereits innerhalb der Zelle zu zweien (β-Form) oder zu dritt (γ-Form) zusammenlagern. Der eigentliche Bestandteil des Kollagens besteht aus der γ-Form, das sind drei in einer α-Helix ineinandergewundene Polypeptidketten. Dieses sog. Tropokollagen-Molekül aggregiert jetzt geordnet, um jeweils 1/4 verschoben, zu größeren Einheiten: zu Filamenten oder zu quergestreiften Fibrillen. Die neugebildeten Kollagenfibrillen lagern sich zum großen Teil zu kleinen Bündeln zusammen. Dafür spricht die geringe Zahl der Einzelfibrillen im Vergleich mit der ständig wachsenden Zahl und Dicke der Fibrillenbündel. Es liegt nahe, diese Kraft, die die neugebildeten Kollagenstrukturen zu Bündeln zusammenfaßt, in trajektoriellen Spannungslinien zu suchen, die auch in diesen embryonalen Herzen vermutet werden müssen (Weiss, 1929). Die Herzaktion beginnt erstaunlich früh und mit dem Tag 12 ist bereits eine synchrone Kontraktionsfähigkeit vorhanden. Die Zunahme der Zahl und Dicke der Kollagenfäserchen (lichtmikroskopisch: Retikulinfäserchen) geht wahrscheinlich parallel der mechanischen Anforderungen an das Bindegewebe.

Bei Durchmusterung aller Bilder scheint dabei ein peripher-zentrales Gefälle zu bestehen. Die meisten und dicksten Fäserchen finden sich in der bis zu 1oo µ breiten Schicht zwischen Epi- und Myocard. In den zentralen Muskelschichten und zwischen Endocard und Muskulatur kommen nur wenige sehr dünner Fäserchen vor. Ob dieses Verhalten der morphologische Ausdruck mechanischer Belastung oder die Folge unterschiedlicher Proliferationsvorgänge ist, kann allein morphologisch nicht entschieden werden. Es sei aber daran erinnert, daß in den zentralen Bereichen durch Einwachsen der Sinus, durch Kapillarsprossung und die dadurch bedingte verzögerte Ausbildung einer kompakten Wand viel Anpassungsfähigkeit vorausgesetzt wird (Henningsen u. Schiebler, 197o; Voboril u. Schiebler, 197o). Ein starres Bindegewebegerüst würde hierbei sicher stören.

Parallel zu der Entstehung der Kollagenfibrillen laufen Synthese, Sekretion und Reifung der mucopolysaccharidhaltigen Substanzen. Während zunächst, wie oben bereits erwähnt, die Hyaluronsäure eine wesentliche Bedeutung hat, werden zunehmend auch Strukturen produziert, die ebenfalls rutheniumrotpositiv sind, weniger und kürzere Filamente aufweisen und eine deutliche räumliche Beziehung zum Kollagen haben. Diese Gebilde wurden von anderen Autoren als chondroitinsulfathaltige Substanzen identifiziert (Merker u. Günther, 1973). Ihre enge räumliche und hochgeordnete Beziehung zu den Kollagenfibrillen läßt die bereits biochemisch immer wieder vermutete Beteiligung des Chondroitinsulfates an der geordneten Aggregation der Tropokollagen-Moleküle zu

quergestreiften Fibrillen möglich erscheinen. Das periodische Aufsitzen rutheniumrotpositiver Granula auf den Fibrillen in einem Abstand von ca. 500 bis 600 Å - ein Abstand, der späteren Perioden entspricht - bestärkt diese Vorstellung besonders bildhaft.

Die geordnete Aggregation der Tropokollagen-Moleküle führt im Herzmuskel aber zunächst zu einem Querstreifungsmuster, das nicht den reifen Verhältnissen entspricht. Darauf hatte schon Wolff (1961) anhand seiner Untersuchung isolierter Fibrillen hingewiesen. Die Durchsicht der Literatur und die Erfahrung dieses Institutes (Merker, Schwarz, persönliche Mitteilungen) sprechen dafür, daß die nicht periodisch geordnete, d. h. die kontinuierliche Querstreifung typisch für junges, neugebildetes Bindegewebe ist. Noch völlig ungeklärt und auch von der biochemischen Seite nicht genügend gewürdigt ist das Problem der Umwandlung dieser Aggregationsform in die typische Form. Die nächstliegende Möglichkeit wäre ein Verschieben der Bausteine gegeneinander, d. h. eine Änderung der Aggregationsform. Es ist aber sehr schlecht vorstellbar, daß in einer fertigen Fibrille alle Bestandteile durch eine unbekannte Kraft regelrecht in eine neue Position verschoben werden. Eine andere Möglichkeit wäre die Annahme einer Existenz verschiedener Aggregationsformen in einer Fibrille: ein Fibrillenkern mit kontinuierlicher Querstreifung und ein Fibrillenmantel mit typischer Querstreifung. Obwohl Unterschiede, besonders im Löslichkeitsverhalten, postuliert worden sind, ist ihr Vorkommen wenig wahrscheinlich, da hochaufgelöste Schnitte keine Querstreifungsunter-

schiede zeigen. Die wahrscheinlichste Lösung bleibt dann die nachträgliche Ausbildung von Faltungen, reaktiven Seitenketten, Zucker- und Mucopolysaccharidverbindungen, die durchaus in der Lage wären, ein neues Querstreifungsmuster zu prägen.

Als letzte Struktur des mesenchymalen Interzellularraumes im embryonalen Herzmuskel soll die Basalmembran erwähnt werden. Nachdem die starre Zuordnung von Sekretionsleistungen zu bestimmten Zelltypen etwas ins Wanken geraten ist (siehe Seite 4), muß eine Beteiligung der Muskelzellen und Endothelzellen selbst an der Bildung ihrer eigenen Basalmembran angenommen werden. Natürlich wird auch das Mesenchym einen gewissen Beitrag zu ihrem Aufbau leisten. Aus Untersuchungen an Gewebekulturen ist bekannt, daß weder Epithel- noch Bindegewebe allein eine derartige Grenzschicht entwickeln können (Grobstein, 1953, 1955). Erst die gemeinsame Kultivation beider Gewebe ermöglicht den Aufbau einer Basalmembran. Die Produktionsrate der Basalmembran-Bestandteile muß beträchtlich sein, wenn man bedenkt, daß ständig neue Muskelzellen gebildet werden, neugebildete ihre Oberfläche vergrößern und eine heftige Proliferation von Gefäßen im Gange ist. Die lange Zeit nachweisbaren Bildungsvorgänge oder das häufige Fehlen von basalmembranähnlichem Material, besonders unter dem Endothel, kann in diesem Sinne gedeutet werden. Die elektronenmikroskopischen Bilder lassen vermuten, daß das Bindegewebsmaterial zunächst locker abgelagert wird und erst sekundär zu der typischen wohldefinierten Schicht verdichtet wird.

Abschließend soll darauf hingewiesen werden, daß bei jeder Organogenese die Entstehung und Reifung des Bindegewebes parallel geht. Es ist deshalb durchaus nicht berechtigt, wie es häufig geschieht, allein das Verhalten der spezifischen Zellpopulation - in unserem Falle der Herzmuskelzellen - zu betrachten. Erst die funktionelle Kopplung der spezifischen Zellen mit denen des Bindegewebes ergibt eine belastbare und funktionsfähige Einheit. Das bisher häufig vernachlässigte Bindegewebe entsteht aber aus einer Fülle von komplizierten molekularbiologischen Schritten, die natürlich auch während der Entwicklung und dem turn-over störbar sind. Die Folgen einer einseitigen Störung der Bindegewebsentwicklung für die spätere Herzfunktion ist noch längst nicht sicher bekannt. Die hier vorgelegten elektronenmikroskopischen Untersuchungen sollen Anregung und Grundlage für solche Überlegungen und Untersuchungen sein.

Zusammenfassung:

Die Bindegewebsentwicklung embryonaler Herzen von Wistarratten des Schwangerschaftstages 11, 14, 15, 17, 18, 19, 2o, 21, 22 und 1 Tag post partum wurde lichtmikroskopisch (HE - bzw. Azanfärbung) und elektronenmikroskopisch untersucht. Als Fixationsverfahren kamen zur Anwendung: Osmiumphosphatpuffer, Karnowski modifiziert und Rutheniumrot. Die lichtmikroskopischen Befunde waren für eine Beurteilung von Entstehung und Entwicklung des interstitiellen Bindegewebes wenig geeignet. Elektronenmikroskopisch fiel in allen Phasen der Entwicklung das bei Endothelzellen und Fibroblasten besonders stark, bei Muskelzellen vergleichsweise relativ gering ausgeprägte ribosomenbesetzte rauhe endoplasmatische Retikulum auf. Das rauhe endoplasmatische Retikulum enthielt feingranuläres bis feinfilamentäres Material und war teilweise zu großen Hohlräumen aufgebläht, die untereinander und mit perinukleären Zysternen anastomosierten. Dieses Zellorganell muß für die Bildung der mesenchymalen Interzellularsubstanz verantwortlich gemacht werden. Die Basalmembran, am Tag 11 nur stellenweise vorhanden, war zur Geburt fast vollständig ausgebildet, wobei sich noch bestehende Lücken vorwiegend unter Endothelzellen fanden. In den optisch weitgehend leeren Interzellulärräumen früher Entwicklungsstadien fanden wir mit der Rutheniumrot-Methode einzelne isoliert liegende, unregelmäßig verlaufende Filamente, Granula mit in die Umgebung ausstrahlenden Filamenten (Glycosaminoglycane) sowie einzeln oder in kleinen Gruppen liegende

Fibrillen unreifen kollagenen Bindegewebes. Es zeigte sich hier, wie auch bei späteren Entwicklungsstadien, ein peripher-zentrales Gefälle der Menge des interstitiellen Bindegewebes. Elektronenoptisch dichte Granula lagen den Kollagenfibrillen zunächst nur streckenweise auf, wurden dann zahlreicher und zeigten schließlich einen fast regelmäßigen Abstand von 500 bis 600 Å. Die von ihnen ausstrahlenden feinen Filamente bildeten eine Vernetzung zwischen den jetzt dichter gepackten Fibrillen der einzelnen Fibrillenbündel. Anzahl und Dicke der Fibrillen sowie auch der Fibrillenbündel nahmen über den gesamten Zeitraum der Untersuchung zu. Gegen Ende der Foetalzeit ging die für junges, kollagenes Bindegewebe typische kontinuierliche Querstreifung an einzelnen Stellen in die reife, polare, periodische über. Endothelzellen und Fibroblasten zeigten auch am ersten Tag post partum noch ausgeprägte Syntheseaktivität des rauhen endoplasmatischen Retikulums.

Abb. 1: Embryonales Rattenherz Tag 11

a) Ventrikelnaher Sinus mit buckelartig vorgewölbten Endothelzellen (E), Muskelzellen (M) und einem weiten, optisch fast leeren mesenchymalen Interzellularraum (I).
L = Lumen
Vergrößerung 1 : 3.500

b) Höhere Vergrößerung der zum Mesenchym hin gelegenen Zellmembran des Endothels (⟶).
Beginnende Basalmembranbildung und locker gepacktes feinfilamentäres Material (✱).
Im mesenchymalen Interzellularraum (I) einzelne kollagene Filamente in Quer-, Schräg- und Längsschnitt (⟼).
Vergrößerung 1 : 84.000

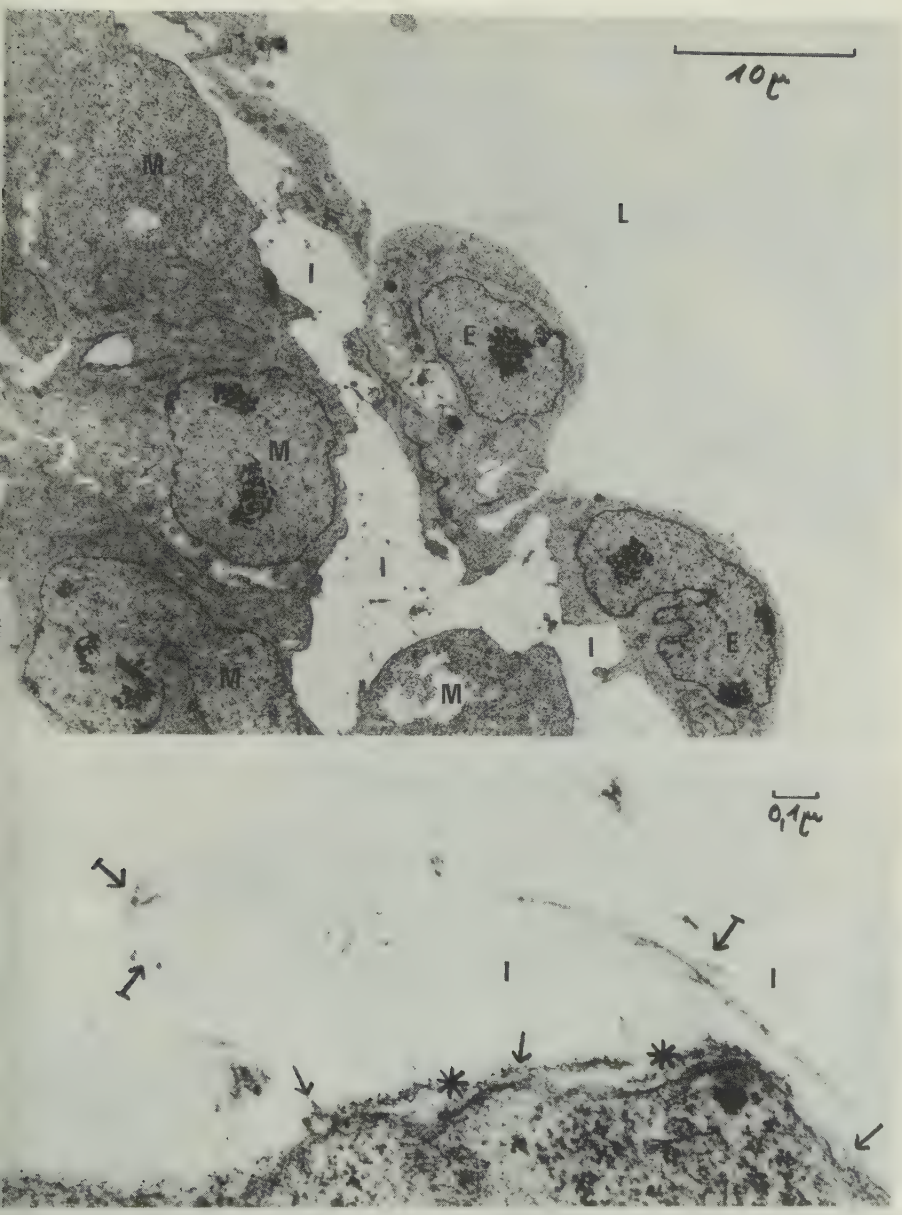


Abb. 1

Abb. 2: Embryonales Rattenherz Tag 11

Höhere Vergrößerung von Sinusendothelzellen mit zahlreichen Zellorganellen.

G = Golgi-Apparat

Mi = Mitochondrien

ER = Endoplasmatisches Retikulum

X = erweiterte Hohlräume des endoplasmatischen Retikulums

N = Nukleus

No = Nukleolus

O = freie Ribosomen

I = Interstitium

L = Lumen

Vergrößerung 1 : 14.000

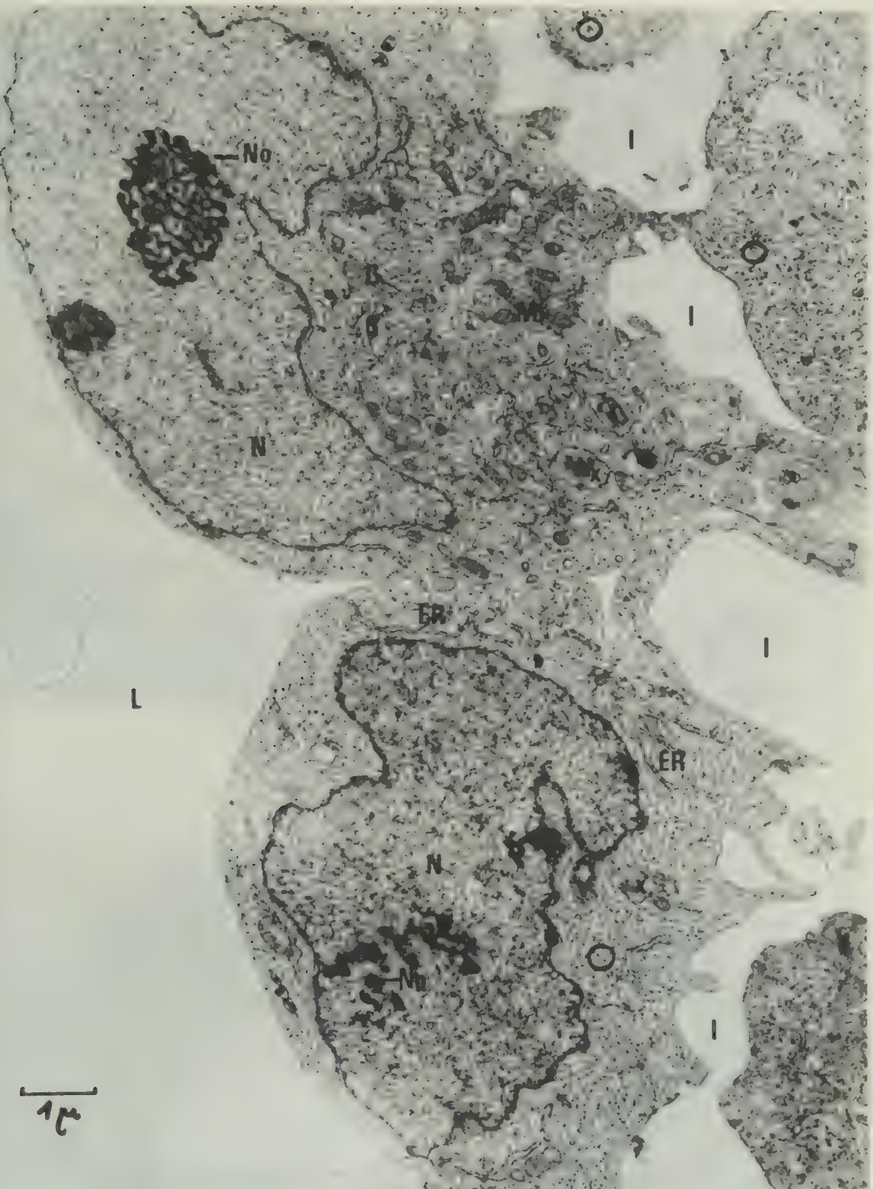


Abb. 2

Abb. 3: Embryonales Rattenherz Tag 11

a) Mesenchymaler Interzellularraum (I) zwischen Endothelzellen (E) (mit beginnender Basalmembranbildung) und Muskelzellen (M) mit kleinen kollagenen Fibrillenbündeln (⟶), filamentären Strukturen (⟶) und elektronendichten Granula (O).
Vergrößerung 1 : 7o.ooo

b) Ausschnittsvergrößerung aus Abb. 3 a). Andeutung einer Querstreifung an den Kollagenfibrillen (⟶).
Vergrößerung 1 : 154.ooo

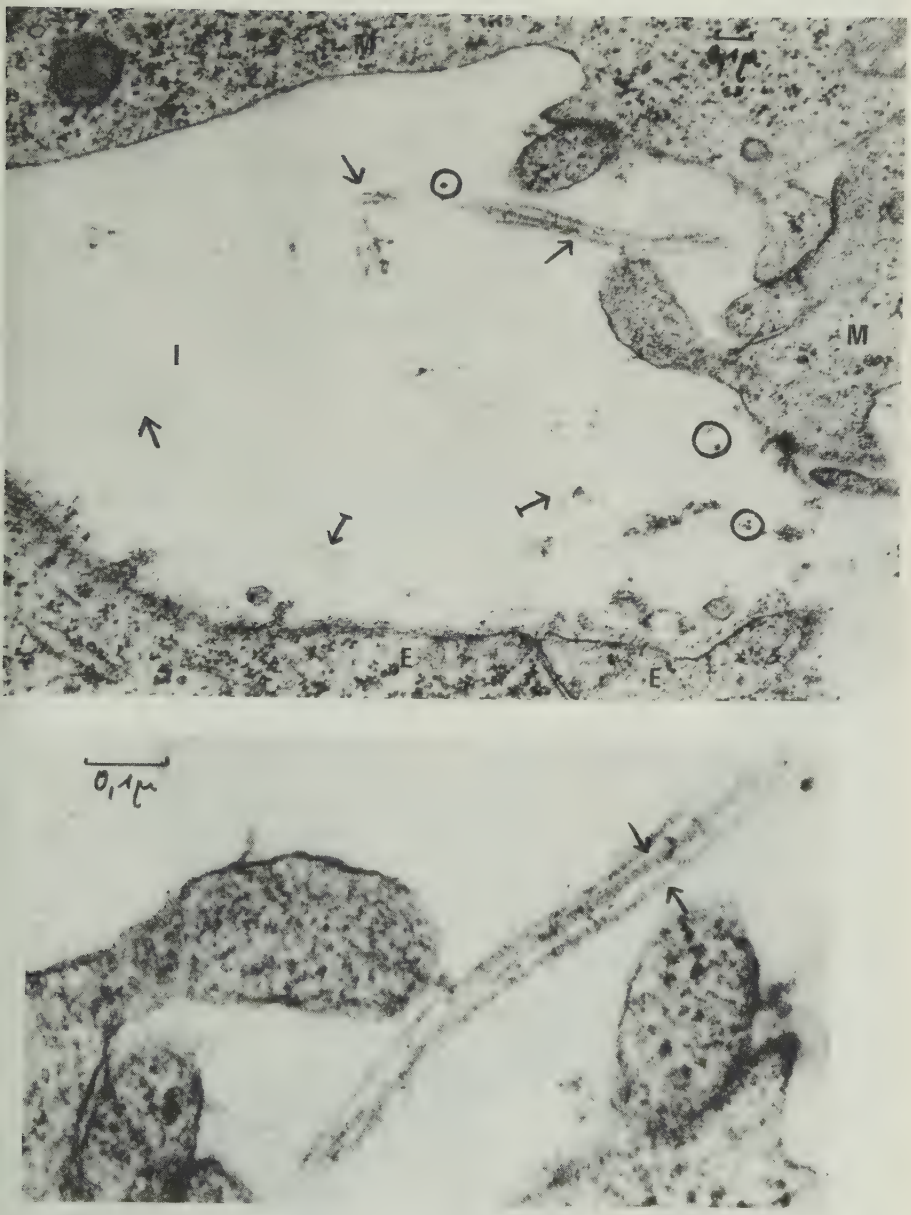


Abb. 3

Abb. 4: Embryonales Rattenherz Tag 14

Epicardschicht (Ep), darunter liegender Interzellularraum (I) mit kollagenen Fibrillen im Querschnitt (⟶).

Vergrößerung 1 : 32.000

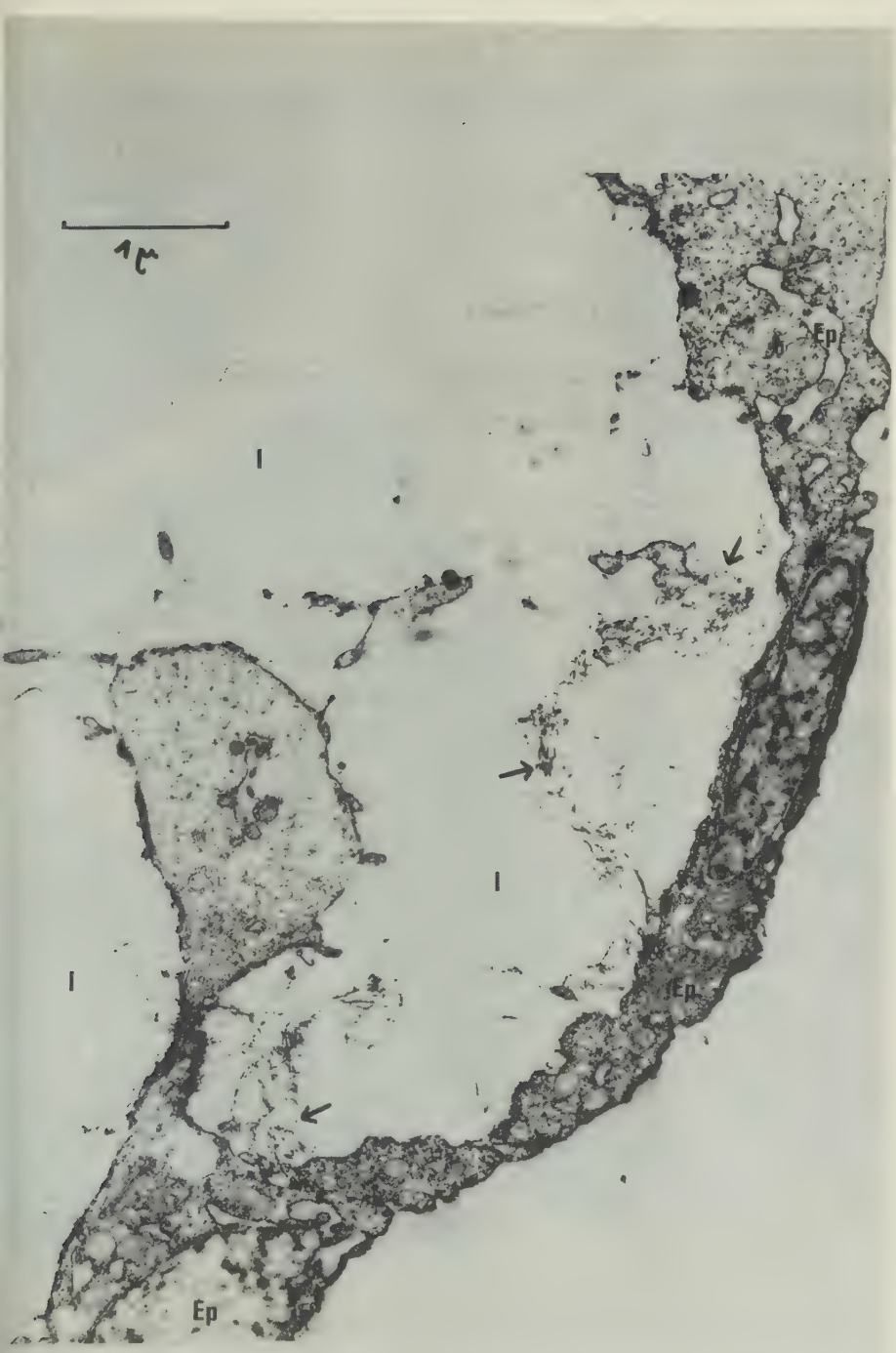


Abb. 4

Abb. 5: Embryonales Rattenherz Tag 14

Fibroblastenähnliche Zelle (F) ungeklärter Lokalisation mit rauhem endoplasmatischem Retikulum (➞).

E = Endothelzellen bzw. plattenförmige Endothelzellausläufer

M = Muskelzellen

Vergrößerung 1 : 35.000

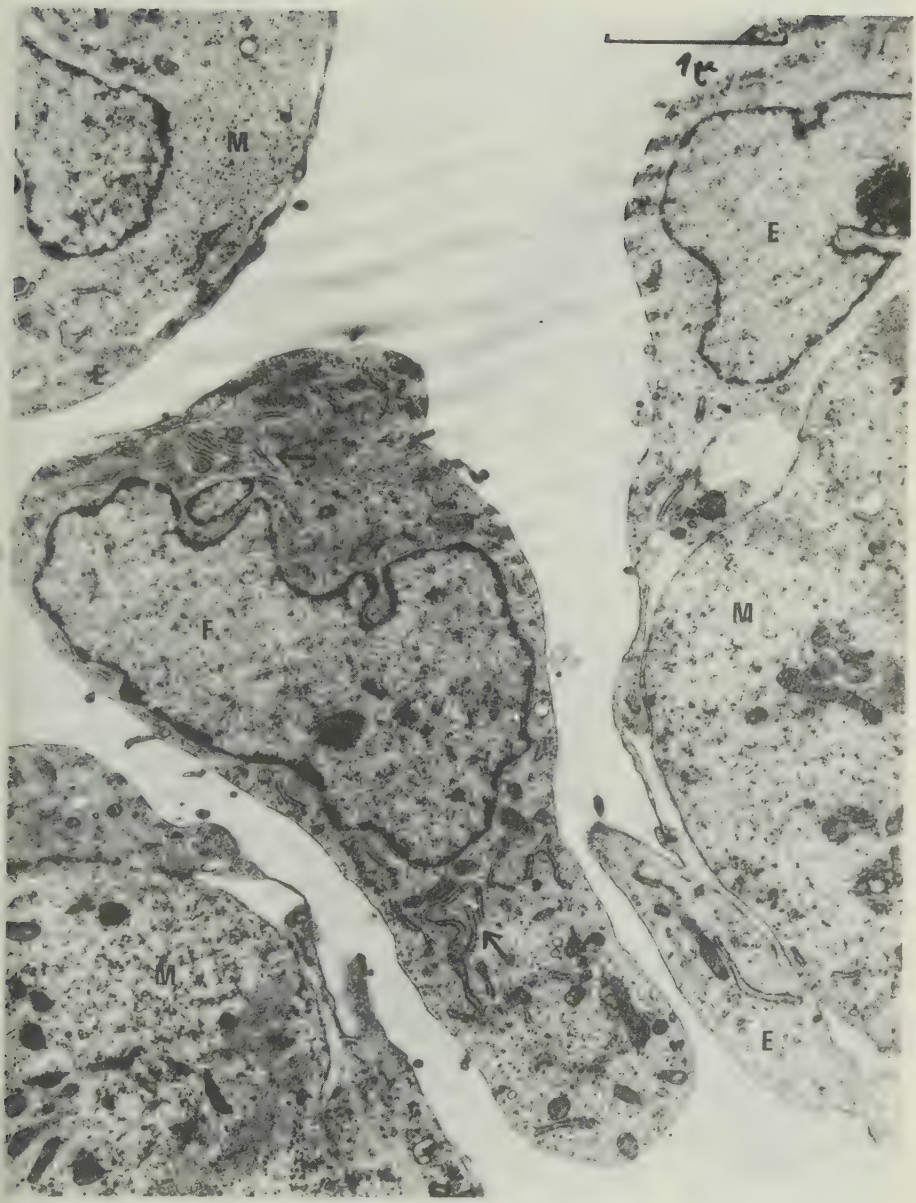


Abb. 5

Abb. 6: Embryonales Rattenherz Tag 14

a) Plattenförmige durch tight-junctions (⟶) verbundene Mesenchymzellfortsätze (M). Auf beiden Seiten unregelmäßige, teilweise gewunden verlaufende Filamente (⟶).
Vergrößerung 1 : 35.000

b) Fibroblast mit erweiterten Hohlräumen des rauhen endoplasmatischen Retikulums (X).
Vergrößerung 1 : 35.000

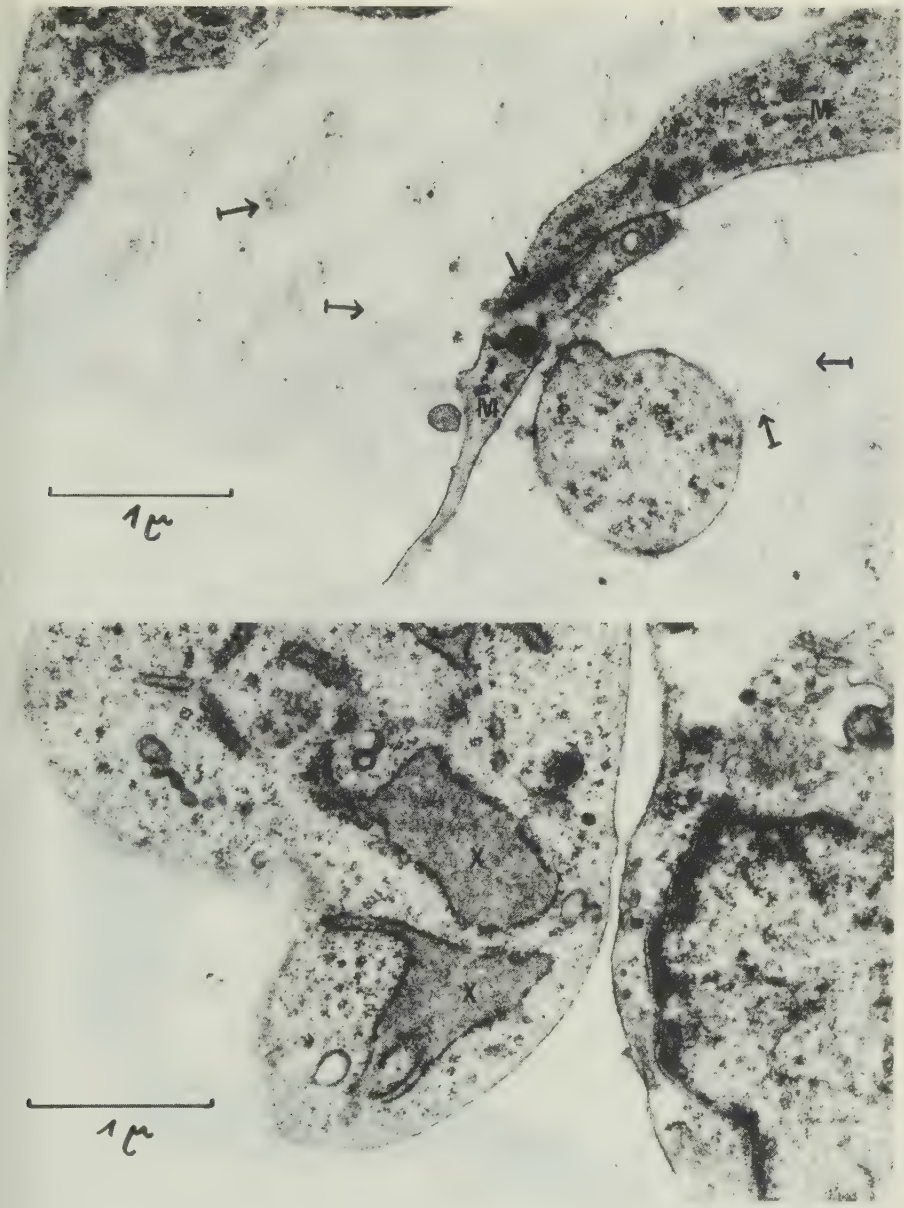


Abb. 6

Abb. 7: Embryonales Rattenherz Tag 14

Sinusendothel mit zahlreichen Zellkontakten (⟶)
und Hohlräumen des endoplasmatischen Retikulums (ER).
Im Interzellularraum (I) zahlreiche Filamente.
M = Muskelzellen
L = Lumen
Vergrößerung 1 : 14.000

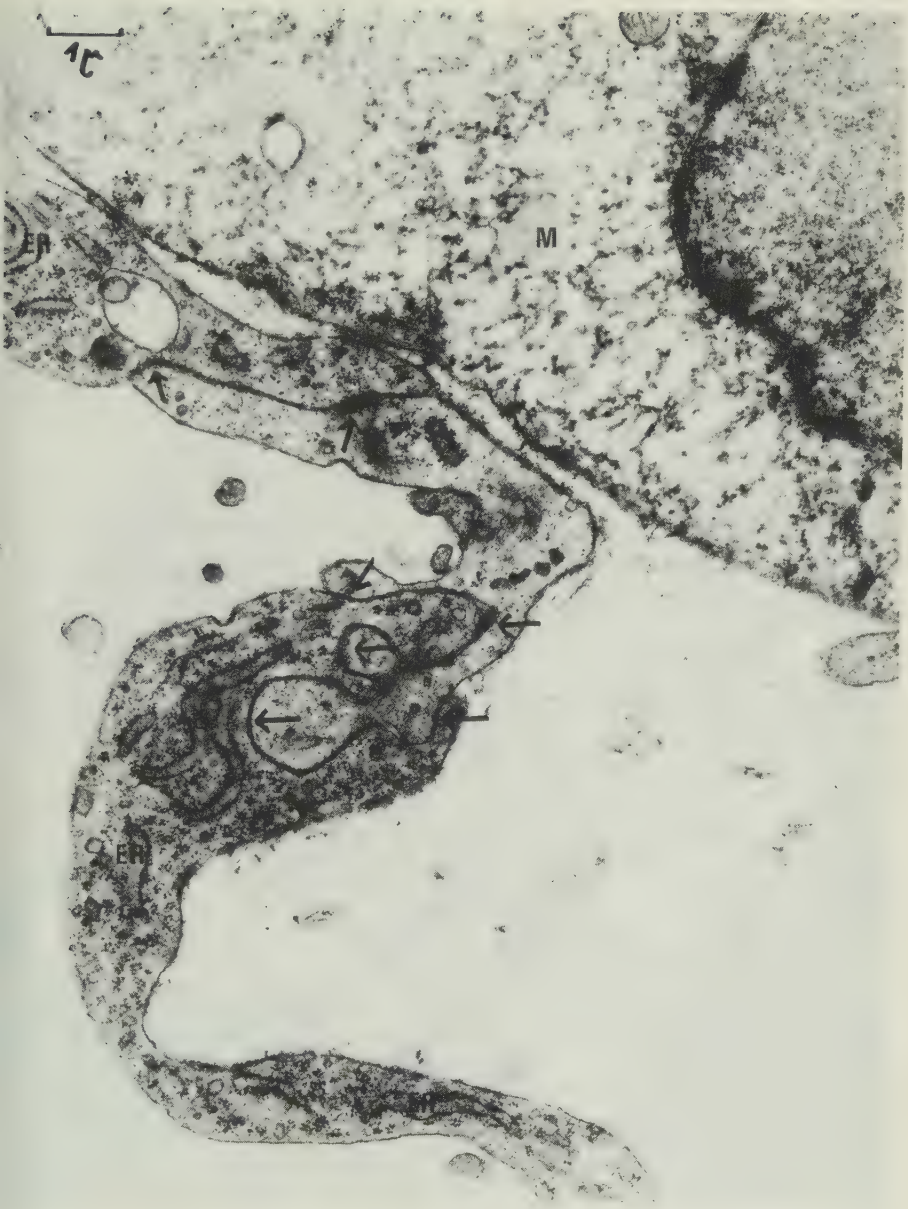


Abb. 7

Abb. 8: Embryonales Rattenherz Tag 15

Dicker Abschnitt einer Endothelzelle (E) mit zahlreichen Zellorganellen:

ER = rauhes endoplasmatisches Retikulum

Mi = Mitochondrien

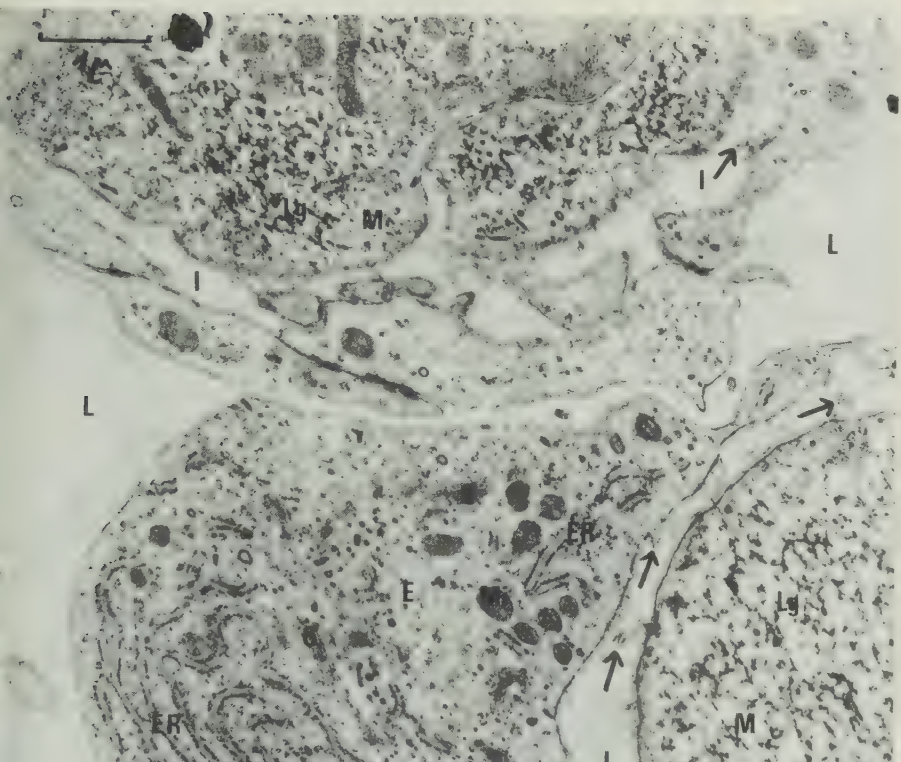
G = Golgi-Apparat

Unterhalb der Endothel- und um die Muskelzellen (M) Basalmembranbildung. Im Interzellularraum (I) einzelne kollagene Strukturen (⟶).

L = Lumen

Lg = Glycogen

Vergrößerung 1 : 21.000



E
Lg
M
I
I
L
L
ER
E
Lg
ER
ER
I
M
Mi
M
Lg
I
M

Abb. 9: Embryonales Rattenherz Tag 17

Subepicardialer Raum mit zahlreichen Fibrocyten (F) und kollagenen Faserbündeln (→) im Interzellularraum (I). Myocard (—M—).

E = Epicardzellen

Vergrößerung 1 : 2.500

1op
M
I
I
I
I

Abb. 1o: Embryonales Rattenherz Tag 17

Übersichtsbild von einer Kapillare (L) zwischen glycogenreichen Muskelzellen (M).

E = Endothelzellen

X = Interstitium

Vergrößerung 1 : 8.ooo

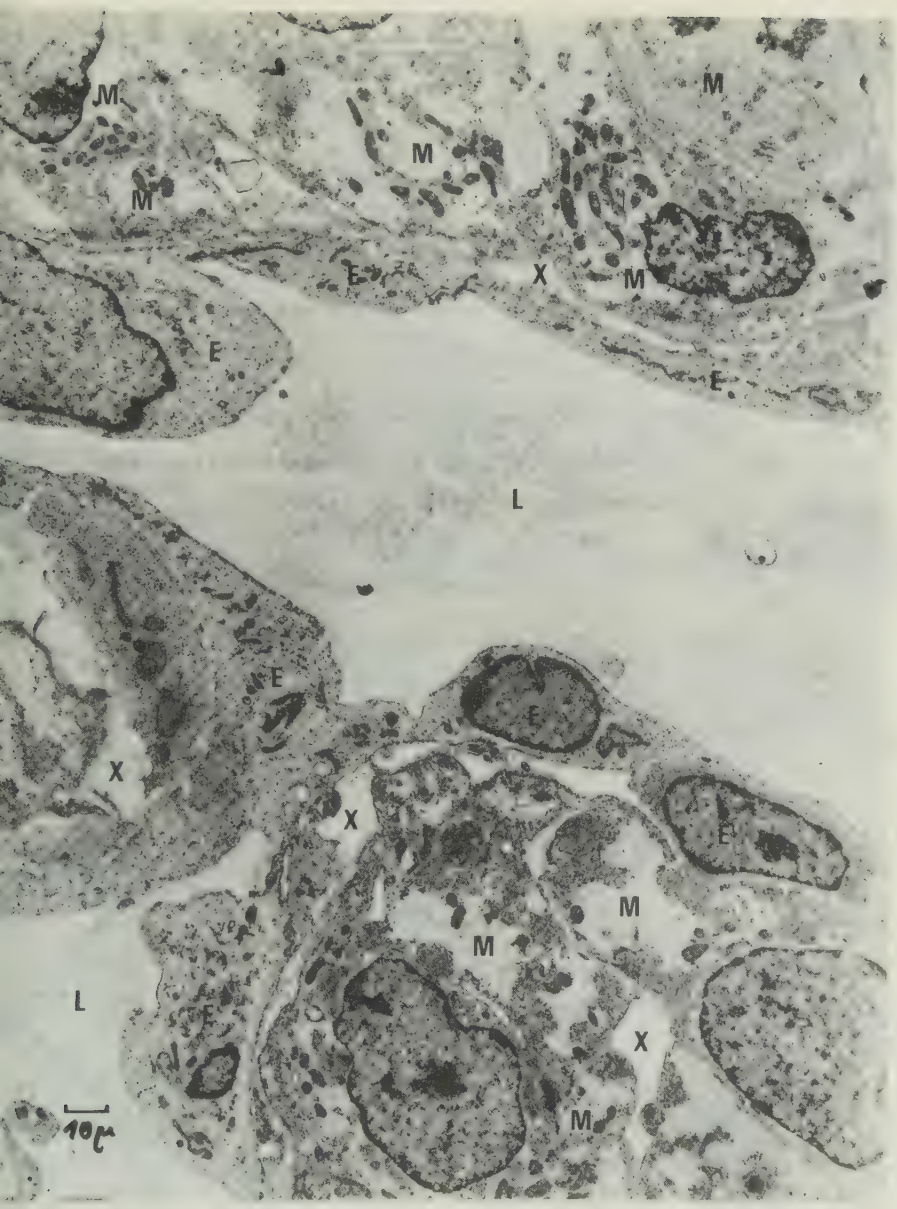


Abb. 10

Abb. 11: Embryonales Rattenherz Tag 17

a) Kollagene Fibrillenbündel aus dem Epicardbereich.
Vergrößerung 1 : 28.000

b) Interzellularraum (I) zwischen Endothelzellen (E) und Muskelzellen (M) mit Kollagenfibrillen (→).
Vergrößerung 1 : 25.000

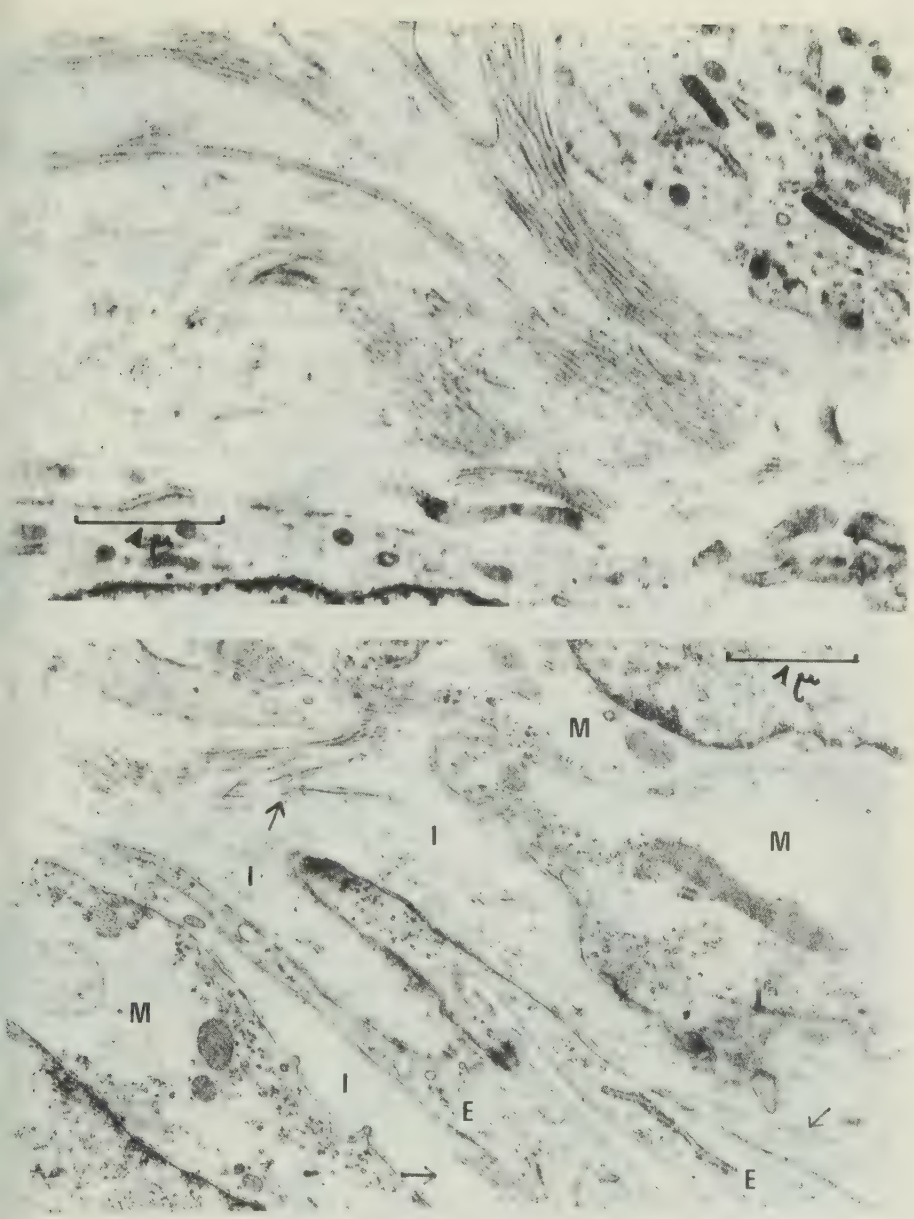

1μ
1μ
M
I
M
I
M
I
E
E

Abb. 12: Embryonales Rattenherz Tag 18

Subepicardialraum. Fibroblastenfortsätze (F) mit rauhem endoplasmatischem Retikulum (X), Mitochondrien (Mi) und elektronendichten Einschlüssen (✱). Im Interzellularraum kollagenes Fibrillenbündel (→) und feine Filamente (O). Parallel zur Membran der Muskelzelle (M) deutliche Basalmembran (⟼).

H = Histiocyten

Vergrößerung 1 : 28.000

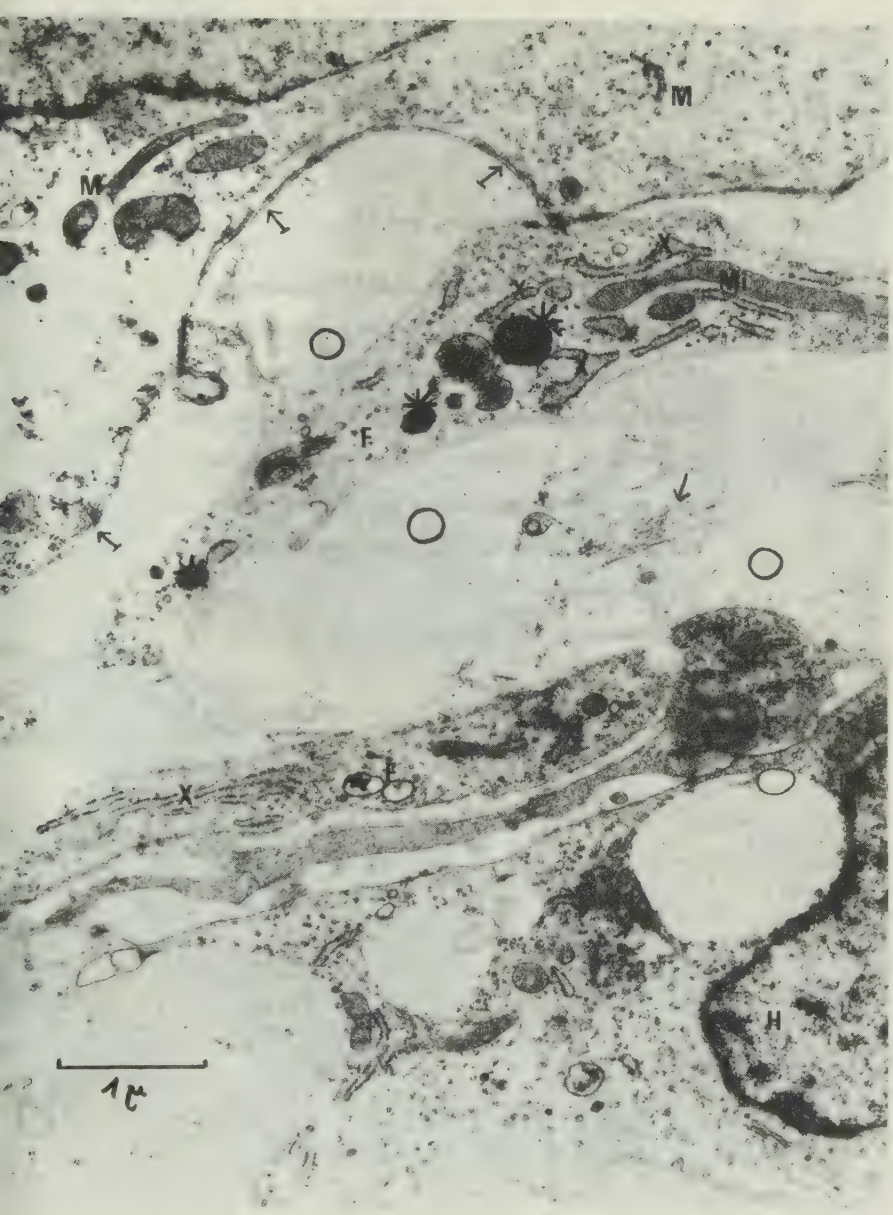


Abb. 12

Abb. 13: Embryonales Rattenherz Tag 18

Subepicardialraum. Fibroblast (F) bzw. Fibroblastenfortsätze (F_1) mit reichlich endoplasmatischem Retikulum (ER). Im Interzellularraum zahlreiche rutheniumrotpositive Strukturen: kollagene Fibrillenbündel (✱) und granulo-filamentäres Material (→). Herzmuskelzellen (M) mit ausgewaschenen Glycogenmassen (X).
Vergrößerung 1 : 14.000

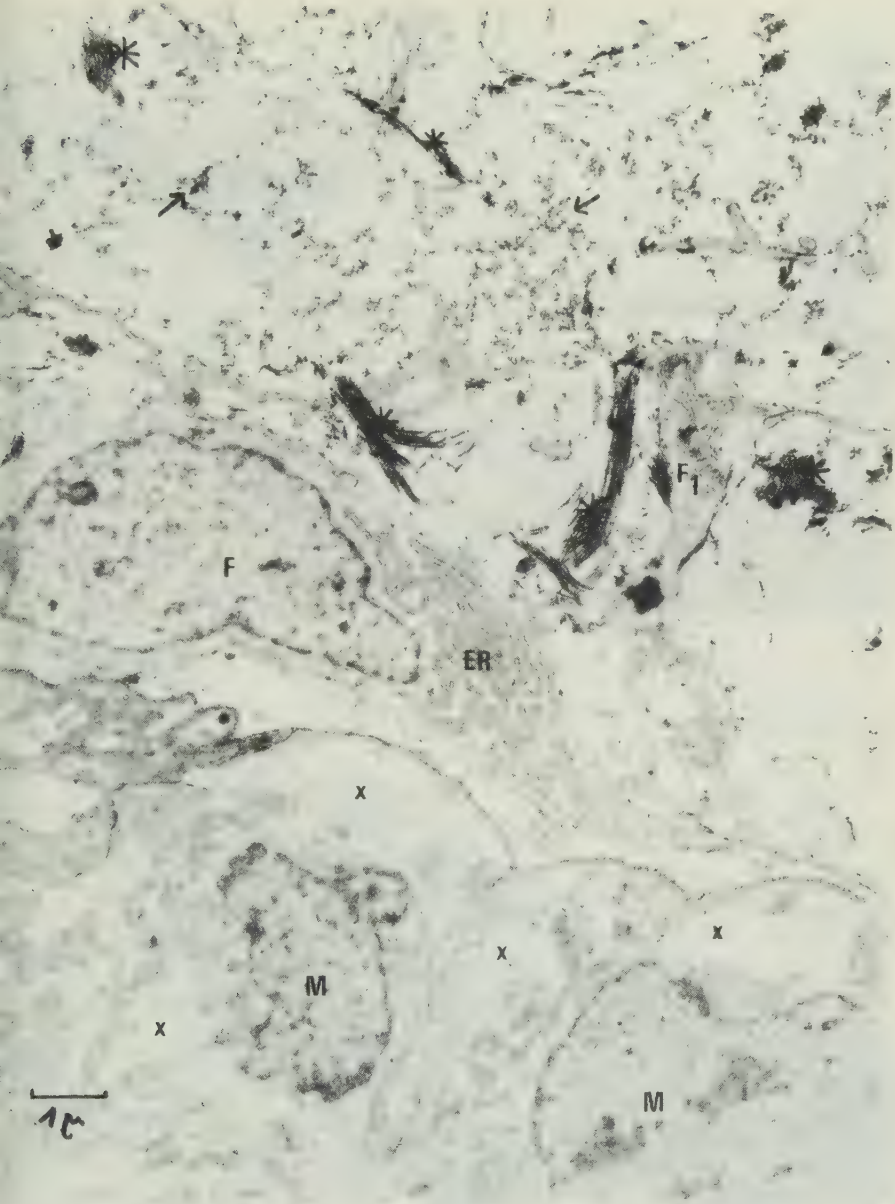

F1
F
ER
M
M

Abb. 14: Embryonales Rattenherz Tag 18

Kollagene Faserbündel aus dem subepicardialen Raum mit stark rutheniumrotpositiven kollagenen Fibrillenbündeln. Fibroblast (F) mit erweiterten Hohlräumen des rauhen endoplasmatischen Retikulums (ER).

a) Vergrößerung 1 : 35.000

b) Vergrößerung 1 : 63.000

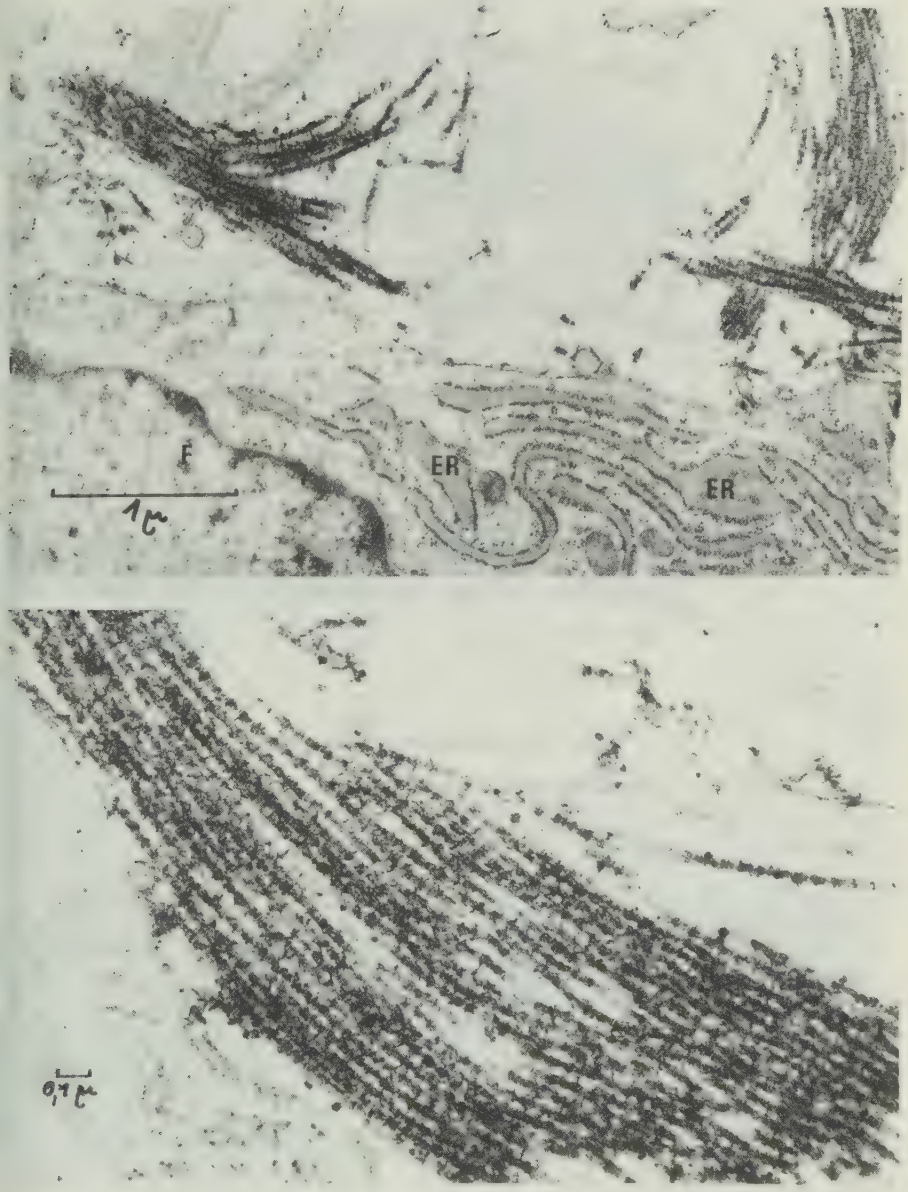


Abb. 14

Abb. 15: Embryonales Rattenherz Tag 18

a) Wie Abb. 11. Bei höherer Vergrößerung werden rutheniumrotpositive Granula (→), den kollagenen Fibrillen regelmäßig aufsitzend, deutlich. In granulafreien Abschnitten sog. kontinuierliche Querstreifung.
Vergrößerung 1 : 12o.ooo

b) Einzelfibrille mit zahlreichen rutheniumrotpositiven Belägen, die die Querstreifung weitgehend maskieren.
Vergrößerung 1 : 84.ooo

c) Kleines kollagenes Fibrillenbündel mit zahlreichen gewundenen Filamenten in der Umgebung.
Vergrößerung 1 : 77.ooo

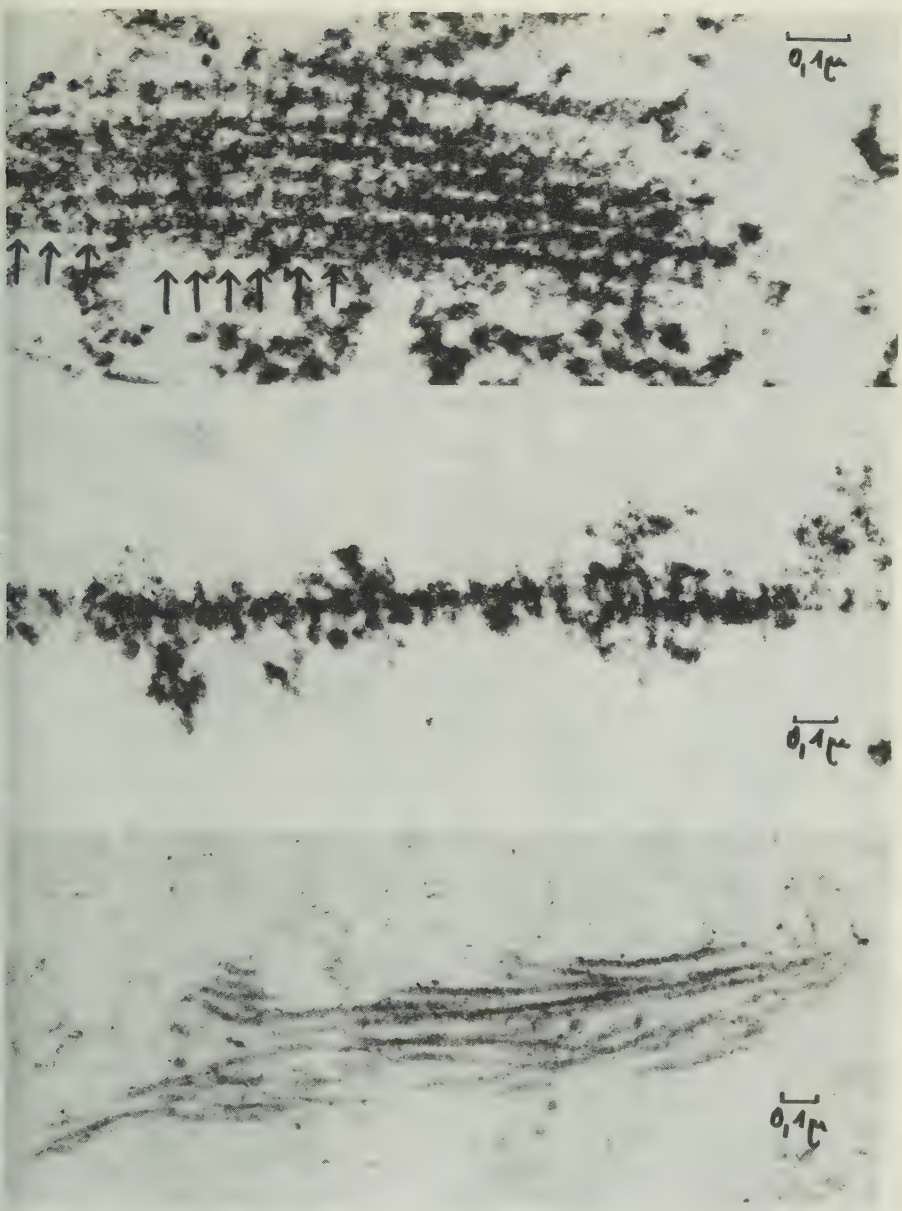


Abb. 13

Abb. 16: Embryonales Rattenherz Tag 19

Übersichtsbild mit Kapillarlumen (L), Endothelzellen (E), Interzellularraum (I) und zahlreichen glycogenreichen Muskelzellen (M).
Vergrößerung 1 : 8.000

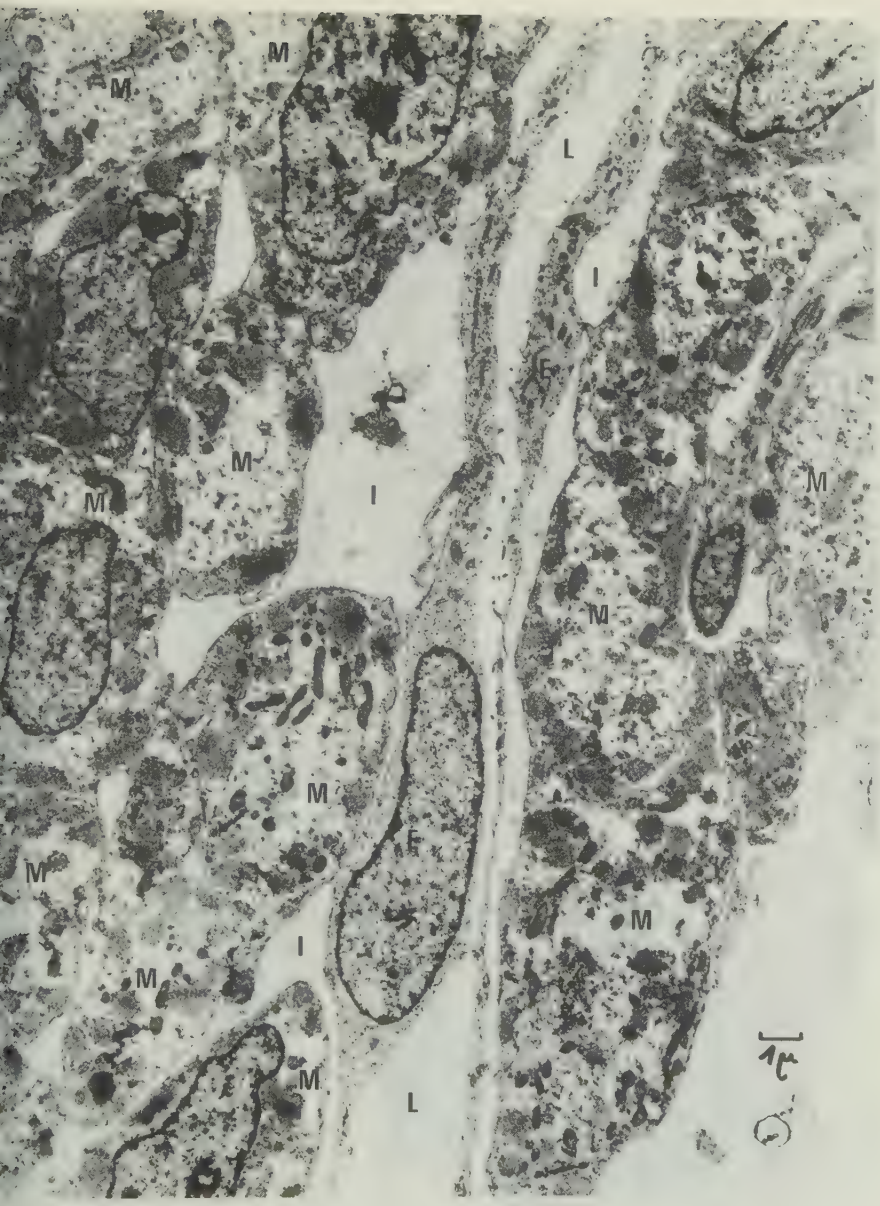


Abb. 16

Abb. 17: Embryonales Rattenherz Tag 19

Erythrocyten in einer Kapillare. Endothelzellen (E), Muskelzellen (M), Fibroblast mit rauhem endoplasmatischem Retikulum (ER). Im Interzellularraum (I) einzelne kollagene Fibrillenbündel (⟶).

Vergrößerung 1 : 17.000

M
I
I
ER
ER
E
M
E
M
E
M
M
I
1 µ

Abb. 18: Embryonales Rattenherz Tag 19

Fibroblast (F) zwischen Endothel- (E) und Muskelzellen (M). Basalmembran (B) während der Bildung. Interzellularraum (I) mit Fibrillen und zahlreichen Filamenten.

Vergrößerung 1 : 24.000

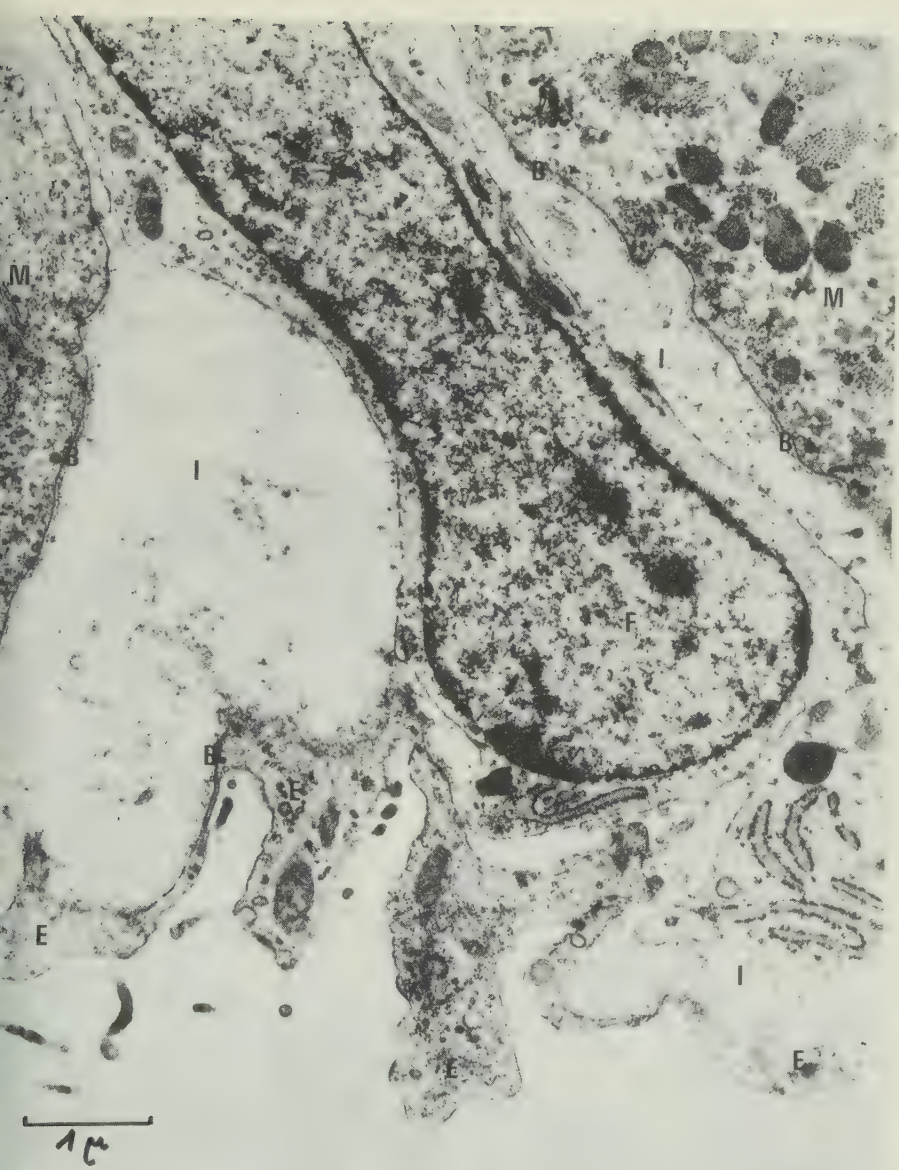


Abb. 18

Abb. 19: Embryonales Rattenherz Tag 21

Interzellularraum (I) zwischen Endothel- (E) und Muskelzellen (M) mit einem dünnen kollagenen Fibrillenbündel (⟶), Filamenten (F) und elektronendichten Granula (O).

L = Gefäßlumen

X = quergeschnittene Myofilamentbündel

Vergrößerung 1 : 40.000

Inset: Ausschnittvergrößerung des Fibrillenbündels

Vergrößerung 1 : 70.000

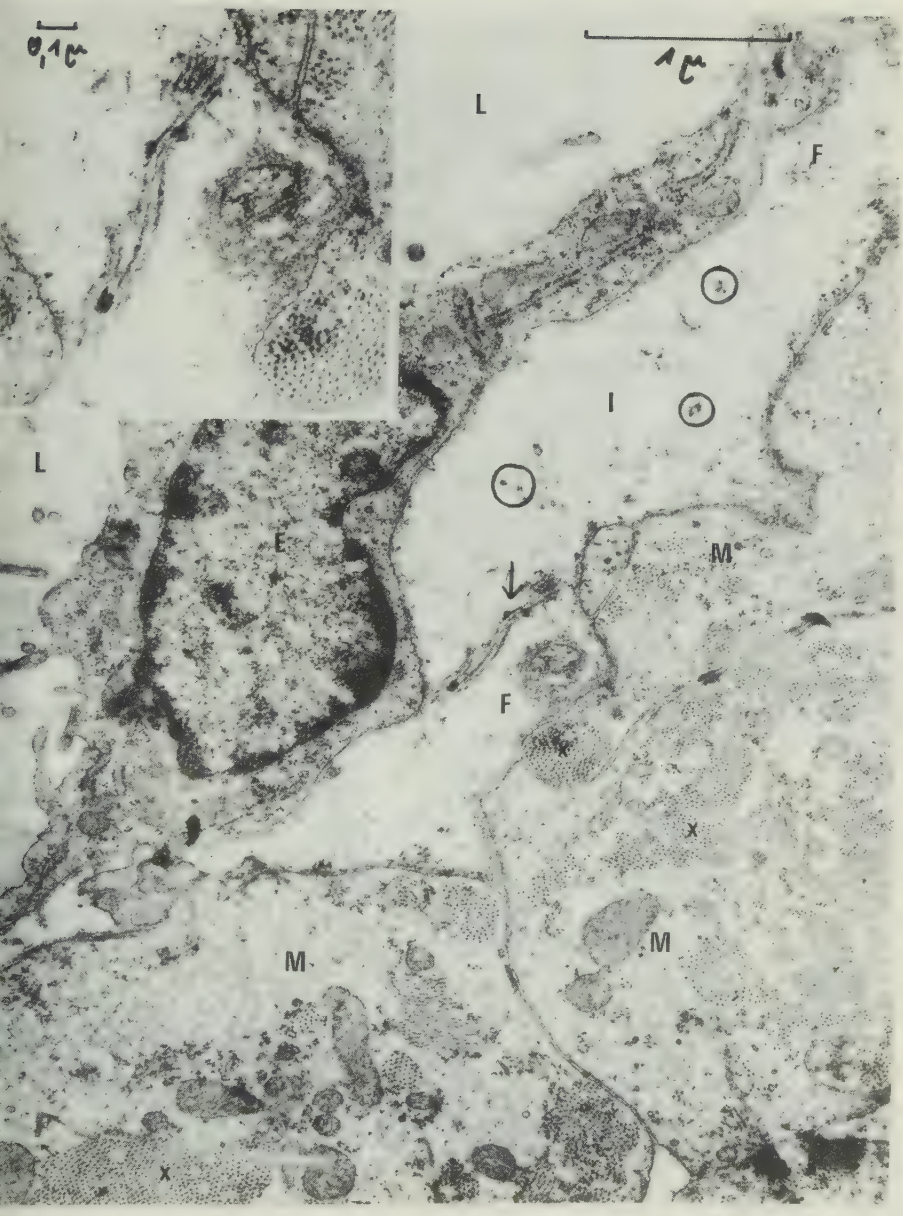

0,1 µ
1 µ
L
F
I
L
E
M
F
x
M
M
x

Abb. 2o: Embryonales Rattenherz Tag 22

Interzellularraum (I) zwischen Muskelzellen (M) mit dicken kollagenen Fibrillenbündeln (X).
Vergrößerung 1 : 21.ooo

Inset: Die höhere Vergrößerung macht die Querstreifung einzelner Fibrillen deutlich (→).
Vergrößerung 1 : 9o.ooo

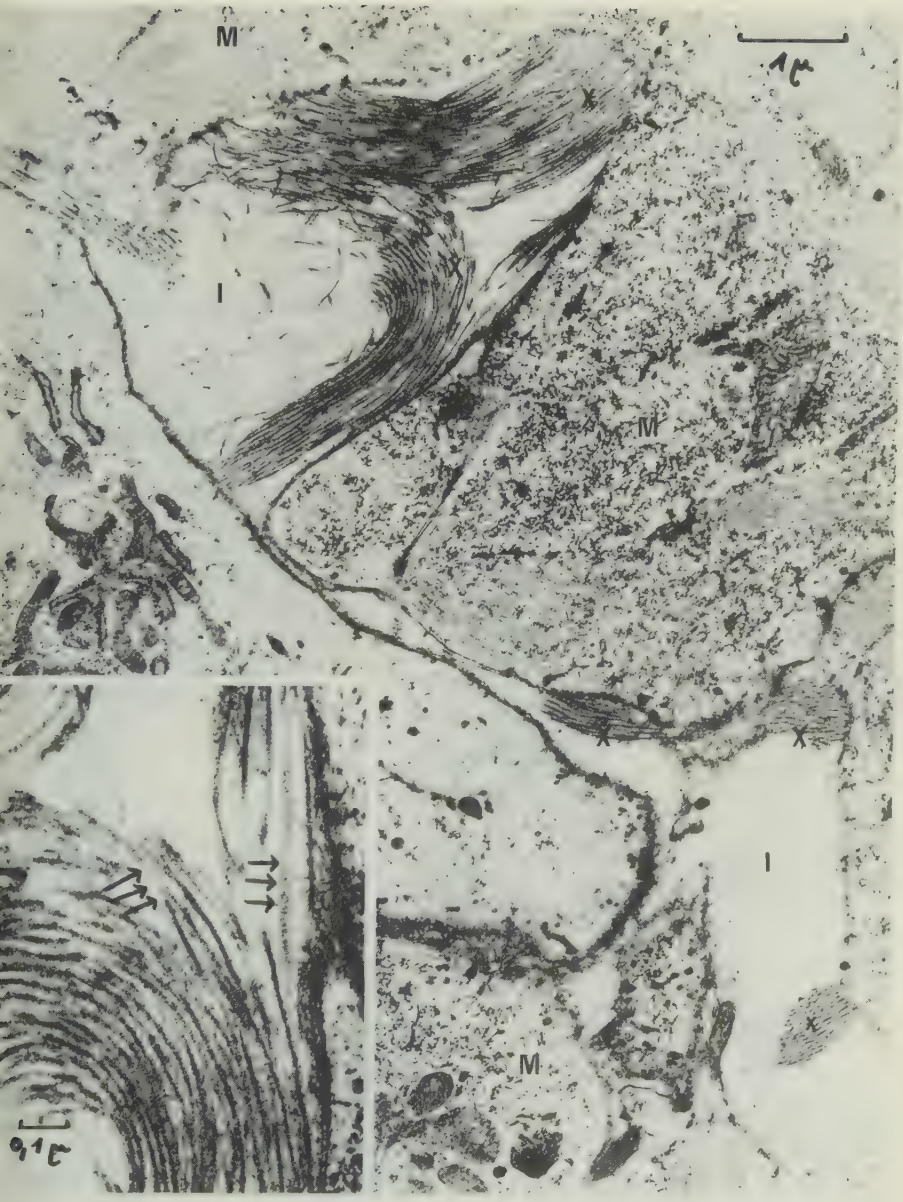


Abb. 20

Abb. 21: Rattenherz Tag 1 post partum

Subepicardialer Raum mit Histiocytenfortsatz (H), der Granula (X) und Vakuolen (✱) enthält. Quer- (K_1) und schräggeschnittene (K_2) kollagene Fibrillenbündel, M = Muskelzellen, Basalmembran (→). Vergrößerung 1 : 35.000

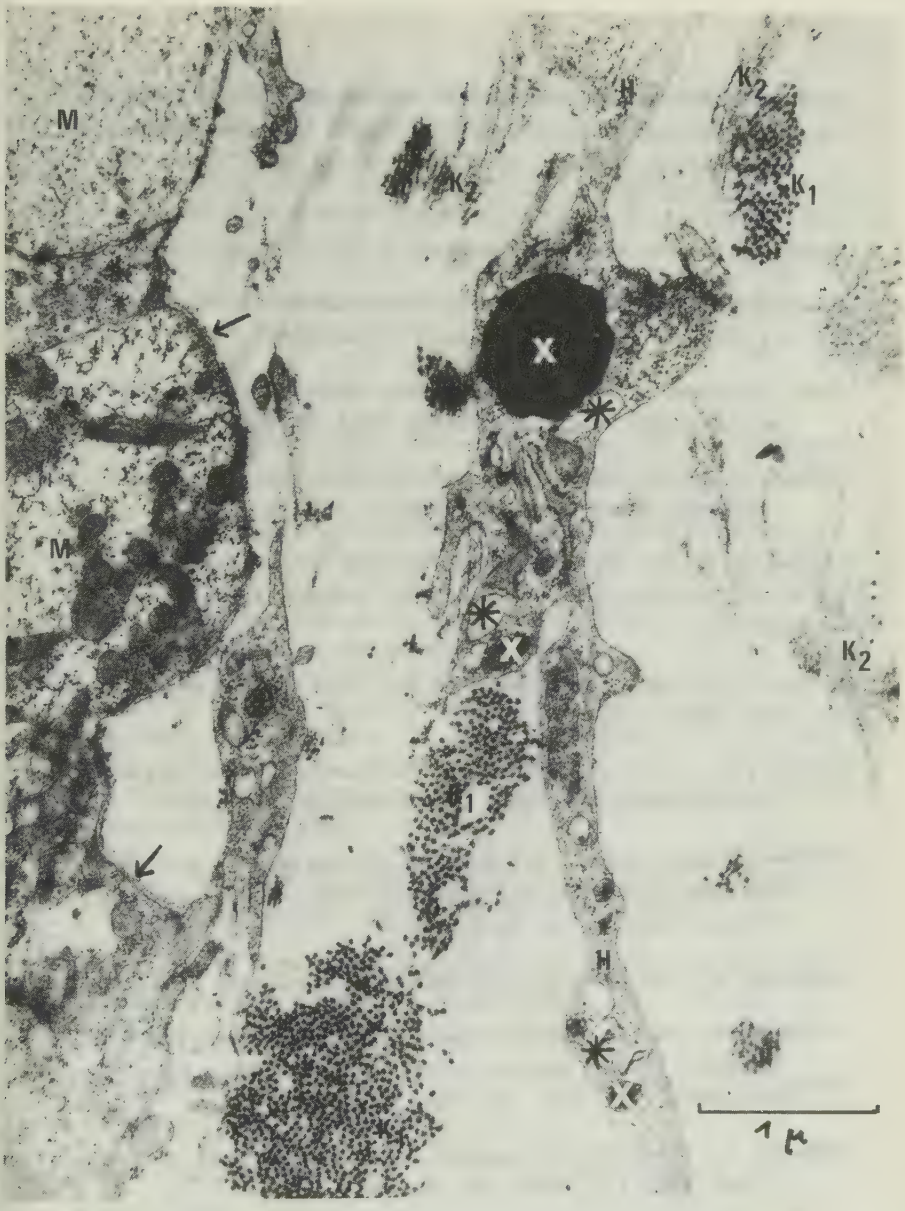


Abb. 21

Achúcarro, N., und Calandre, L.: El método del tanino y la plata amoníaca aplicado al studio del tejido muscular cardíaco del hombre y del carnero. Trab. del Lab. de Inves. biol. Univ. Madrid 11: 131, 1913

Bargmann, W.: Das Herz des Menschen. Bd. I, Stuttgart 1963

Boedtker, H., und Doty, F.: On the nature of the structural elements of collagen. J. Am. chem. Soc. 77: 248, 1955

Cajal, R.: Textura de la Fibra muscular del corazon. Rev. trim. de histologia normal y patholog. 1888 (Zit. n. Quast)

Conrad, G. W.: Collagen and mucopolysaccharide biosynthesis in the developing chick cornea. Dev. Biol. 21: 292, 197o

Corner, G. W.: On the widespread occurence of reticular fibrils produced by capillary epithelium. Contrib. to embryol. 9: 85, 192o

Davis, C. L.: The cardiac jelly of the chick embryo. Anat. Rec. 27: 2o1, 1924

Dettmer, N., et al.: Elektronenmikroskopische Befunde an versilberten kollagenen Fibrillen. Z. Mikrosk. 6o: 29o, 1951

Dettmer, N., und Schwarz, W.: Die elektronenmikroskopische Darstellung v. Stoffen, die die Gruppe CHOH - CHOH enthalten. Z. wiss. Mikrosk. 61: 423, 1954

Dietrich, A.: Die Elemente d. Herzmuskels. Jena 191o

v. Ebner, V.: Über d. feineren Bau d. Herzmuskelfasern mit bes. Rücksicht auf die Glanzstreifen. Sitz.Ber. Akad. Wiss. Wien math.-natur. Kl. Abt. III: 129, 192o

Eckhard, C.: Zur Entwicklungsgesch. d. Herzmuskulatur. Zeitschr. f. rat. Med. III. Reihe, 29, 55, 1867

Faller, A.: Der Faserverlauf im Bindegewebe des Epicards menschlicher Herzen und seine funktionelle Bedeutung. Morph. Jahrb. 89: 28o, 1944

Fernandez-Madrid, F.: Biosynthesis of collagen. J. Cell Biol. 33: 27, 1967

Fernando, N. V. P., und Movat, H. Z.: Fibrillogenesis in regenerating tendon. Lab. Invest. 12: 214, 1963

Goerttler, K.: Lehrbuch der Histologie. Stuttgart 1963, 151

Gould, B. S., in: Treatise on collagen. Vol. 2, Acad. Press London 1968

Grassmann, W.: Unsere heutige Kenntnis des Kollagens. Das Leder 6: 241, 1955

Graumann, W.: Kohlenhydrathistochemie der Bindegewebsfasern. Acta histochem. 3: 226, 1957

Grobstein, C.: Inductive epithelio mesenchymal interaction in cultured organ rudiments of the mouse. Science 118: 52, 1953

Grobstein, C.: Inductive interaction in the development of the mouse metanephros. J. Exp. Zool. 13o: 319, 1955

Gross, J.: The behaviour of collagen units as a model in morphogenesis. J. biophys. biochem. Cytol. Suppl. 2: 261, 1956

Hackelberg, H.-H.: Elektronenmikroskopische Untersuchung über die Entstehung und Reifung des Corneastromes bei der Ratte. Inaugural-Diss. an d. FU Berlin, 1971

Harting: Récherches micrométriques sur le développement des tissues. 1845, p. 53 (Zit. n. Minot)

Henningsen, B., und Schiebler, T. H.: Zur Frühentwicklung der herzeigenen Strombahn. Elektronenmikroskopische Untersuchung an der Ratte. Z. Anat. Entw.-Gesch. 13o: 1o1, 197o

Heidenhain, M.: Über die Struktur des menschlichen Herzmuskels. Anat. Anz. 2o: 33, 1901

Heidekrüger, R.: Die normale Entwicklung der Linse bei der Ratte des Stammes FW 68. Inaugural-Diss. FU Berlin, 1973

v. Herrath, E., und Dettmer, N.: Elektronenmikroskopische Untersuchung an Gitterfasern. Z. wiss. Mikroskopie 6o: 282, 1951

Hoche, Cl. L.: Recherches sur la structure des Fibres musculaires cardiaques. Bibliogr. anat. 5: 159, 1897

Hodge, A. J.: Principles of ordering in fibrous systems. In: 4. Internat. Kongr. Elektr. Mikroskop. Berlin, 1958. Springer Verl. Berlin Vol. 2: 119, 196o

Hoehl, E.: Über das Verhältnis des Bindegewebes zur Muskulatur. Anat. Anz. 14: 253, 1898

Hort, W.: Untersuchungen zur funktionellen Morphologie des Bindegewebsgerüstes und der Blutgefäße der linken Herzkammerwand. Virch. Arch. path. Anat. 333: 565, 196o

Irving, E. A., und Tomlin, S. G.: Collagen, reticulum and their argyrophilic properties. Proc. Royal Soc. Ser. B, 142: 423, 1952

Körner, F.: Über die Verknüpfung der Muskelfasern des Herzens durch gewisse Bindegewebsfasern des Perimysium internum. Z. mikrosk. anat. Forschg. 4o: 29, 1936

Kühn, K., et al.: Über den Aufbau der Kollagenfibrille aus Tropokollagenmolekülen. Naturwiss. 47: 258, 196o

Levene, C. I.: Lathyrism. In: Molecular pathology of connective tissue. (ed. Pérez-Tamayo, Rojkind) New York, 177, 1973

Lindner, E.: Morphologie des Herzmuskels. Z. Zellf. mikr. Anat. 45: 702, 1957

Luft, J. H.: Ruthenium red and violet I. chemistry, purification, methods of the use for electron microscopy and mechanism of action. Anat. Rec. 171: 347, 1971

Luft, J. H.: Ruthenium red and violet II. Fine structured localisation in animal tissues. Anat. Rec. 171: 369, 1971

Lunkenheimer, P. P., und Ising, H.: Das hydraulische Skelett des Herzens. Zentralbl. f. Vet. med. (im Druck)

Mair, W. G. P., und Tomé, F. M. S.: Atlas of the ultrastructure of the diseased human muscle. London 1972

Manasek, F. J.: Embryonic development of the heart, I. A light and electron microscopic study of myocardial development in the early chick embryo. J. Morph. 125: 329, 1968

Manasek, F. J.: Embryonic development of the heart, II. Formation of the epicardium. J. Embryol. exp. Morph. 22/3: 333, 1969

Manasek, F. J.: Sulfated extracellular matrix production in the embryonic heart and adjacent tissues. J. exp. Zool. 174: 415, 1970

Marceau, I.: Recherches sur la structure et le développement comparé des fibres cardiaques dans la série des vertébrés. Ann. Sc. nat. Sér. 8 Zool. 19, 1903 und Thèse de la faculté des Sc. Paris 1903 (Zit. n. Quast)

Marcus, H.: Über den feineren Bau des menschlichen Herzmuskels. Z. Zellf. mikrosk. Anat. 2: 203, 1925

Markwald, R. R., und Adams Smith, W. N.: Distribution of muco-substances in the developing rat heart. J. Histochem. and Cytochem. 20: 896, 1972

Merker, H.-J.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Fibrillogenese in der Haut menschlicher Embryonen. Z. Zellf. 53: 411, 1961

Merker, H.-J.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Fibrillogenese im menschlichen Granulationsgewebe. Langenbecks Arch. Klin. Chir. 297: 411, 1961

Merker, H.-J., und Struwe, K.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen zum Problem der Sekretion der bindegewebigen Intercellularsubstanz. Z. Zellf. 115: 212, 1971

Merker, H.-J., und Günther, Th.: Die elektronenmikroskopische Darstellung von Glycosaminoglycanen im Gewebe mit Rutheniumrot. Histochemie 34: 293, 1973

Minot, Ch. S.: Human embryology. New York 1892

Meyer, K.: Struktur und Biologie der Polysaccharidsulfate im Bindegewebe. In: Struktur und Stoffwechsel des Bindegewebes. (Hrsg. Hauss und Losse), Thieme Stuttgart, 1960

Pappenheimer, A. M.: Über juvenile familiäre Muskelatrophie. (Zugleich ein Beitrag zur normalen Histologie des Sarkolemms). Zieglers Beitr. z. Patholog. Anat. u. z. allg. Pathologie 44: 430, 1908

Perez-Tamayo, R.: Collagen degradation and resorption: physiology and pathology. In: Molecular pathology of connective tissues. (ed. Perez-Tamayo and Rojkind), New York, 230, 1973

Price, K. C., et al.: Experimental needle biopsy of the myocardium of dogs with particular reference to histologic study by electron microscopy. J. Exp. Med. 101: 687, 1955

Priest, R. E.: Biosynthesis of collagen and elastin. In: Molecular pathology of connective tissues (ed. Perez-Tamayo and Rojkind), New York, 106, 1973

Prockop, D. J.: The intracellular biosynthesis of collagen. Arch. Internat. Med. 124: 563, 1969

Quast, P.: Zur Histologie der Muskel-Sehnengrenzen des Herzmuskels. Z. mikrosk. anat. Forschg. 4: 1, 1926

Reichert (1847), Zit. n. Quast, P.: Zur Histologie der Muskel-Sehnengrenzen des Herzmuskels. Z. mikrosk. anat. Forschg. 4: 1926, Seite 6

Robb-Smith, A. H. T,: What is reticulum? In: Connective tissue. Blackwell Sci. Publ. Oxford, 177, 1957

Rohr, H. P., und Jurukova, Z.: Beitrag zur Bildung bindegewebiger Matrix in glatten Muskelzellen. Pathologia Europaea 3: 571, 1968

Rojkind, M.: Molecular structure of the fibrous components of the connective tissues. In: Molecular pathology of connective tissues. (ed. Perez-Tamayo and Rojkind), New York, 1, 1973

Rojkind, M., und Zeichner, M.: Maturation of collagen and elastin. In: Molecular pathology of connective tissues. (ed. Perez-Tamayo and Rojkind), New York, 136, 1973

Ross, R., und Benditt, E. P.: Wound healing and collagen formation, V. Quantitative electron microscopic radioautography observations of Prolin H^3 utilisation by fibroblasts. J. Cell Biol. 27: 83, 1965

Ross, R.: The connective tissue fiber forming cell. In: Treatise on collagen. (ed. Gould, B. S.) Vol. 2: 1, 1968, Acad. Press London

Santer, R. M.: An electron microscopical study of the development of the teleost heart. Z. Anat. Entw.-Gesch. 139: 93, 1972

Santer, R. M., und Cobb, J. L. S.: The fine structure of the heart of the teleost pleuronectes platessa L. Z. Zellf. u. mikrosk. Anat. 131: 1, 1972

Scarpato, R. A.: Sulfutation in the developing rat heart. Anat. Rec. 169: 418, 1971

Schaffer, J.: Vorlesungen über die Histologie und Histogenese. Engelmann Leipzig 1920 (Zit. n. Quast)

Schmitt, F. O.: The macromolecular basis of collagen structure. In: Connective tissue, thrombosis and atherosclerosis. (ed. Page) Acad. Press London, 43, 1959

Schultze, O.: Über den direkten Zusammenhang von Muskelfibrillen und Sehnenfibrillen. Arch. f. mikrosk. Anat. 79: 307, 1912

Schultze, O.: Zur Kontinuität von Muskelfibrillen und Sehnenfibrillen. Anat. Anz. 44: 477, 1913

Schultze, O.: Bemerkungen zu der Erwiderung von C. A. Pekelharing. Anat. Anz. 45: 106, 1914

Schultze, O.: Besprechung zu demonstrierender histologischer Präparate. Anat. Anz. 46: 164, 1914

Schwarz, W.: Über die Morphologie der verschiedenen Bindegewebsfasern unter besonderer Berücksichtigung des Kollagens. Beitr. Silikoseforsch. Bd. 1: 173, 1955

Schwarz, W.: Die Zwischensubstanz des Bindegewebes. In: Kapillaren und Interstitium. (Hrsg. Bartelheimer und Kuchmeister), Thieme Stuttgart, 29, 1955

Schwarz, W.: Morphology and differentiation of connective tissue fibers. In: Connective tissue. Blackwell Sci. Publ. Oxford, 144, 1957

Schwarz, W.: Heutige Vorstellungen über die ultramikroskopische Struktur des Bindegewebes. In: Struktur und Stoffwechsel des Bindegewebes. (Hrsg. Hauss und Losse), Thieme Stuttgart, 106, 1960

Schwarz, W.: Fibrillogenese und Bildung der elastischen Fasern. Arch. Biol. 75: 369, 1964

Schwarz, W.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Lysosomen im Blastem der Extremitätenknospe der Ratte. Z. Zellforsch. 73: 27, 1966

Schwarz, W., et al.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Innenversilberung der Sehnenfibrillen. Z. Histochemie 1: 225, 1959

Silbert, J. E.: Biosynthesis of mucopolysaccharids and protein-polysaccharids. In: Molecular pathology of connective tissues. (ed. Perez-Tamayo and Rojkind), New York, 323, 1973

Silbert, J. E.: Catabolism of mucopolysaccharids and protein-polysaccharids. In: Molecular pathology of connective tissues. (ed. Perez-Tamayo and Rojkind), New York, 355, 1973

Studnicka, F. K.: Ein weiterer Beitrag zur Kenntnis der Zellverbindungen (Cytodesmen) und der netzartigen (gerüstartigen) Grundsubstanzen. Anat. Anz. 48: 396, 1915

Tandler, J., in: Handbuch der Entwicklungsgeschichte des Menschen. (Hrsg. Keibel und Mall), Teil II, Leipzig, 517, 1911

Virâgh, Sz., und Challice, C. E.: Variations in fibrillar organisation, and associated sarcolemmal structures, in cells of the normal mammalian heart. J. Ultrastruct. Res. 28: 321, 1969

Voboril, Z., und Schiebler, T. H.: Über die Entstehung der Gefäßversorgung des Rattenherzens. Verh. Anat. Ges., Suppl. zu Anat. Anz. 126: 259, 197o

Wassermann, F., in: Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen. (Hrsg. Möllendorff), Bd. II: 688, 1929

Weiss, P.: Erzwingung elementarer Strukturverschiedenheiten am in vitro wachsenden Gewebe. Roux' Arch. 116, 1929

Wolff, J.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Altersveränderungen am interstitiellen Bindegewebe des menschlichen Herzens. Z. Rheumaforschg. 2o: 175, 1961

Lebenslauf

Ich, Heinrich Gref, wurde am 12. 11. 1944 als Sohn des Gerhard Gref und seiner Frau Ilse, geb. Sandmeyer, in Leutkirch geboren.

Von 1951 bis 1955 besuchte ich die Grundschulen in Wildberg und Neuenbürg und wurde dann anschließend in das Gymnasium in Neuenbürg aufgenommen. In den Jahren 1962 bis 1965 besuchte ich die deutschen Schulen in Barcelona, Bilbao und Madrid. In Madrid erlangte ich 1965 die Hochschulreife.

1965 erhielt ich die Zulassung zum Medizinstudium an der Freien Universität Berlin und legte 1972 die Prüfungen zum Staatsexamen ab. Anschließend arbeitete ich 5 Monate als Medizinalassistent an der chirurgischen Abteilung des Klinikums Westend Berlin. Von Januar bis April 1973 war ich als Medizinalassistent an der inneren Abteilung desselben Krankenhauses beschäftigt. Von Mai bis Oktober 1973 hatte ich einen Ausbildungsvertrag als Medizinalassistent am III. Anatomischen Institut der Freien Universität Berlin. Seit November 1973 arbeite ich als Medizinalassistent der chirurgischen Abteilung des St.-Josef-Krankenhauses in Engelskirchen/Bez. Köln.

Herrn Professor Dr. med. H.-J. Merker
danke ich herzlich für die Überlassung
des Themas und für die freundliche Hilfe
bei der Durchführung der Arbeit.

Herrn Professor Dr. med. E. Wüstenfeld
sowie den Assistenten und anderen
Mitarbeitern des II. Anatomischen Instituts
der Freien Universität Berlin danke ich
ebenfalls für die stets freundlich
gewährte Unterstützung.